

UNIVERSITÉ D'ALGER
FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE D'ALGER
Année 1934 — N° 10

TRAVAIL du LABORATOIRE D'HISTOLOGIE de la FACULTÉ de MÉDECINE D'ALGER
et du CENTRE ANTICANCEREUX

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR LE

SARCOME DE JENSEN

THÈSE
POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE
présentée et soutenue publiquement le 11 Avril 1934

par

COSTE Georges

né le 28 Octobre 1907 à Alger (Algérie)

MEMBRES DU JURY

M. COURRIER, Professeur (Histologie et Embryologie).....	Président
M. MAILLARD, Professeur de Chimie Biologique et Médicale...	} Juges
M. COSTANTINI, Professeur de Clinique Chirurgicale.....	
M. MONTPELLIER, Agrégé (Anatomie Pathologique).....	

ALGER
IMPRIMERIE MINERVA
5, rue Clauzel, 5
1934

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES
SUR LE SARCOME DE JENSEN

TRAVAIL du LABORATOIRE D'HISTOLOGIE de la FACULTÉ de MEDECINE D'ALGER
et du CENTRE ANTICANCEREUX

RECHERCHES EXPÉRIMENTALES

SUR LE

SARCOME DE JENSEN

THÈSE

POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE
présentée et soutenue publiquement le 11 Avril 1934

par

COSTE Georges

né le 28 Octobre 1907 à Alger (Algérie)

MEMBRES DU JURY

M. COURRIER, Professeur (Histologie et Embryologie).....	Président
M. MAILLARD, Professeur de Chimie Biologique et Médicale...	} Juges
M. COSTANTINI, Professeur de Clinique Chirurgicale.....	
M. MONTPELLIER, Agrégé (Anatomie Pathologique).....	

ALGER
IMPRIMERIE MINERVA
5, rue Clauzel, 5
1934

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

DOYEN
DOYEN HONORAIRE
ASSESSEUR

MM. LEBLANC.
HERAIL (*, I. U).
GILLOT (I. U).

PROFESSEURS

Clinique ophtalmologique
Clinique médicale et Hygiène infantile ...
Clinique des maladies des pays chauds, des
maladies syphilitiques et cutanées
Clinique chirurgicale
Clinique obstétricale et puériculture du 1^{er}
âge
Clinique chirurgicale infantile et d'ortho-
pédie
Clinique médicale
Histologie et embryologie
Anatomie pathologique
Chimie biologique et médicale
Hygiène, hydrologie et climatologie
Physiologie
Pharmacie
Médecine légale
Anatomie
Microbiologie et cryptogamie
Physique médicale
Anatomie médico-chirurgicale et médecine
opératoire
Parasitologie et zoologie médicale
Chimie générale pharmaceutique et toxi-
cologie
Botanique et matière médicale
Pathologie générale et Clinique psychia-
trique
Thérapeutique

CANGE (*, I. U).
GILLOT (I. U).

RAYNAUD (*, I. U).
COSTANTINI (*, I. U).

LAFFONT (*, I. U).

LOMBARD (*, I. U).
AUBRY (*, I. U).
WEBER (*, I. U).
POUJOL (I. U).
MAILLARD (*, I. U).
N...
TOURNADE (O. *, I. U).
MUSSO (I. U).
GIRAUD (O. *, I. U).
LEBLANC (*, I. U).
PINOY (*, I. U).
PORTES (*, I. U).

CABANES (*, I. U).
SENEVET (*, A. U).

WUNSCHENDORFF (I. U).
FOURMENT (A. U).

POROT (A. U).
LEBON (*, A. U).

PROFESSEUR SANS CHAIRE

M. COURRIER (*, A. U), agrégé (Histologie).

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. ARGAUD (*, I. U). M. HERAIL (*, I. U).

CHARGÉS DE COURS

Enseignement théorique des élèves sages-
femmes MM. FUSTER (*, I. U)
Clinique d'oto-rhino-laryngologie H. ABOULKER (*, A. U)

AGRÉGÉS

MM. DUBOUCHER (I. U)
FERRARI (I. U).
MOGGI (*).
BENHAMOU (*, I. U).
LACROIX.
N...
RIBET (*, A. U).
N...
HOUEL (*, A. U)
N...
MONTPELLIER.

Chirurgie
Médecine
Physiologie
Anatomie
Chimie médicale
Obstétrique
Histoire naturelle pharmaceutique
Anatomie pathologique

AGRÉGÉ LIBRE

Physiologie M. BATTEZ.

NOTA. — La Faculté n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions
mises dans les thèses ; ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs.

A LA MEMOIRE DE MON COUSIN,

ARMAND JURAMIE,

Interne des Hôpitaux d'Alger
Chevalier de la Légion d'Honneur
Décédé à l'âge de 24 ans
Victime du Devoir.

CITATION A L'ORDRE DE LA NATION :

« Appelé à donner ses soins aux malades contagieux hospitalisés à l'ambulance d'El-Kettar à Alger, s'est prodigué auprès de tous.

« A lutté avec toutes les forces vives de son être pour arracher à la mort une malade atteinte de typhus exanthématique. Est parvenu à la sauver, mais frappé à son tour par la maladie, est décédé victime de son dévouement le 12 janvier 1926. »

(*Journal Officiel* du 5 mars 1926)

A MES PARENTS,

A MA SŒUR,

A MA FAMILLE.

A MON MAITRE,

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. COURRIER,

Votre accueil bienveillant et votre continuelle sollicitude ont été pour moi un bien précieux. Si, dans la vérification expérimentale de l'hypothèse que vous m'aviez confiée je n'ai pas succombé, c'est à vous que je le dois, à votre exemple, à vos conseils. Ils ont guidé, dans la réalisation complète de ce travail tout pénétré de vos pensées, mon incertitude et mon inexpérience.

Vous serez toujours pour moi le Maître vénéré auquel l'affectionné élève que je suis, restera uni par un sentiment de respectueuse admiration et de reconnaissance.

A MES JUGES :

MONSIEUR LE PROFESSEUR MAILLARD,

Chevalier de la Légion d'Honneur
Professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Paris.
Membre correspondant de l'Académie de Médecine.

MONSIEUR LE PROFESSEUR COSTANTINI,

Chevalier de la Légion d'Honneur
Membre correspondant de l'Académie de Médecine.

MONSIEUR LE DOCTEUR MONTPELLIER,

Professeur agrégé d'Anatomie pathologique.

Respectueux hommage de reconnaissance.

A MONSIEUR LE DOCTEUR LEMAIRE,
Officier de la Légion d'Honneur,
Médecin des Hôpitaux,
Directeur du Bureau d'Hygiène de la Ville d'Alger.

dont nous avons apprécié la science et le
dévouement dans un moment d'angoisse.
Témoignage de reconnaissance et de dé-
férente admiration.

Table des Matières

	pages
INTRODUCTION	1
DIVISION DU TRAVAIL	5
PREMIERE PARTIE	
INFLUENCE DE L'ALIMENTATION EXPERIMENTALE SUR LE CANCER	8
Chap. I. — <i>Les besoins azotés des organismes normaux et la valeur biologique des différents acides aminés.....</i>	9
Chap. II. — <i>Les besoins nutritifs de la cellule cancéreuse, étu- diés par la méthode des cultures de tissu.....</i>	13
Chap. III. — <i>Les acides aminés de croissance et la prolifération néoplasique</i>	21
<i>Recherches de nos devanciers.....</i>	23
Chap. IV. — <i>Recherches personnelles</i>	29
a) Les constituants du régime alimentaire expérimental	29
b) Action du régime expérimental sur la croissance des Rats. La carence de lysine.....	45
c) Le sarcome de JENSEN.....	56
d) Action de la carence de lysine sur l'évolution du sarcome de JENSEN. Utilisation de la gliadine.....	65
e) Utilisation de la zéïne.....	72
f) Discussion des résultats	78

DEUXIEME PARTIE

	pages
IMMUNITE, DEFENSE ET HEREDITE DANS LES PRO- CESSUS CANCEREUX	83
Chap. I. — <i>Immunité et défense</i>	85
Chap. II. — <i>Recherches sur l'hérédité</i>	101
CONCLUSIONS GENERALES	107
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	109

INTRODUCTION

L'étude biologique du cancer est entrée dans une voie féconde lorsqu'on a pu provoquer, à volonté, dans des conditions déterminées, la maladie chez l'animal. On sait maintenant faire apparaître de toute pièce une tumeur maligne chez les animaux, on sait aussi transmettre le processus cancéreux d'animal à animal. Pendant longtemps, la recherche de la transmission expérimentale du cancer a souffert de l'ignorance des lois qui régissent la transplantation des tissus, de l'absence de contrôle microscopique, des erreurs de méthodes défectueuses.

Aujourd'hui la technique a grandement bénéficié des résultats acquis en biologie générale. Le cancer devient ainsi la maladie « la plus étudiée expérimentalement » (CONTAMIN).

La multiplicité des animaux mis en expérience, leur facilité d'entretien, permettent la recherche systématique des méthodes de transmission cancéreuse. On isole ainsi les règles qui président à leur succès. La brièveté de la vie des animaux employés, la rapidité de leur reproduction, l'évolution singulièrement accélérée de leur tumeur, sont les conditions qui permettent, mieux que toute observation humaine, d'envisager l'étude de l'hérédité cancéreuse : « Un an d'observation sur les Souris, c'est un siècle de vie humaine » (BORREL).

La légitimité de l'étude du cancer expérimental n'est pas seulement d'ordre spéculatif. « Le cancer est une maladie commune à l'homme et aux animaux » (ROUSSY). Les recherches expérimentales entreprises chez l'animal ne peuvent que contribuer à augmenter nos connaissances sur le cancer

humain et à nous donner un jour des armes efficaces pour lutter contre lui.

Les cancers des Rongeurs ont retenu l'attention des chercheurs depuis que MORAU dès 1894 eut réussi sur la Souris les premières greffes cancéreuses. Le Rat blanc s'est révélé également un excellent matériel d'étude. La fréquence, chez cet animal de tumeurs conjonctives, a permis de multiples travaux relatifs à la greffe expérimentale du cancer.

C'est LOEB (1901), puis JENSEN (1902), qui eurent le mérite de tenter et de réussir les premières greffes chez le Rat. La tumeur que JENSEN eut la bonne fortune d'isoler, connue dans les laboratoires sous le nom de *Sarcome de JENSEN*, s'est montrée particulièrement favorable aux transplantations successives. Malgré quelques modifications dans ses caractères évolutifs (perte de la possibilité de métastases), le temps n'a nullement atténué la malignité de la souche. Au contraire, les différents passages semblent avoir exalté l'activité maligne de la tumeur. Ainsi, les reprises positives étaient relativement faibles il y a 30 ans (5 à 10 %). Aujourd'hui la proportion de greffes réussies atteint sensiblement 100 %. Il n'est donc pas exagéré de dire que nous possédons, avec ce précieux matériel, le moyen de faire naître à volonté le cancer chez le Rat.

C'est une telle souche que nous avons employée pour nos recherches personnelles. Elle nous a donné des résultats remarquables par sa constance et son homogénéité dans l'élevage des Rats Blancs du service d'Histologie d'Alger. Les animaux porte-greffes ont été rapportés de France par notre Maître, Monsieur le Professeur R. COURRIER. Ils provenaient de l'Institut du Cancer de VILLEJUIF. Nous tenons à remercier respectueusement son Directeur, Monsieur le Doyen ROUSSY qui voulut bien nous donner trois Rats cancéreux (1). Ils nous ont servi de souche pour entreprendre nos recherches.

(1) Les Rats portaient les numéros: 1247, 1248, 1249.

Il est en effet capital de pouvoir provoquer, avec une rigueur quasi mathématique, l'apparition du cancer chez l'animal, pour mener à bien certaines études qui exigent *impérieusement* cette condition. C'est pourquoi nous avons adopté ce matériel de travail ainsi que la technique du cancer greffé et nous avons rejeté, de propos délibéré, les autres procédés employés.

Les méthodes du cancer provoqué par les agents chimiques (dérivés d'aniline, goudron), par les agents physiques (rayons X) ou parasitaires (épithélioma spiroptérien) (1) n'ont pas retenu notre attention. La technique du cancer du goudron, l'une des mieux réglées pourtant, reste encore très longue et les résultats obtenus sont inconstants. Les badigeonnages au goudron doivent être poursuivis pendant longtemps : trois mois chez la Souris, dix semaines chez le Lapin. Le caractère manifestement malin des néoplasies ainsi provoquées indique clairement l'importance de cette technique et son intérêt scientifique considérable. Mais 40 % environ des animaux ainsi traités « ne font pas de cancer ». Souvent, les tumeurs primitivement d'aspect cancéreux, régressent et l'examen microscopique révèle quelquefois le caractère uniquement inflammatoire des productions obtenues.

(1) FIBIGER eut l'idée de reproduire expérimentalement ce cancer chez le Rat. A cet effet, il nourrit 116 Rats-pie avec des Blattes infectées de Spiroptères. Dans 55 cas, il détermine, dans un délai de 2 à 10 mois, des lésions hyperplasiques papillomateuses de la paroi gastrique, capables ultérieurement de dégénérer en épithélioma malpighien corné, envahissant et produisant des métastases.

FIBIGER a confirmé ces remarquables recherches chez la Souris blanche. Le *spiroptera neoplastica* est un nématode découvert par FIBIGER lui-même en 1907.

DIVISION DU TRAVAIL

Les recherches, que nous nous proposons de présenter comme sujet de thèse, peuvent être groupées en chapitres d'importance inégale.

Notre travail comprend deux parties:

Dans la première, nous sommes tout d'abord amenés à confirmer les recherches des bio-chimistes américains qui démontrent le rôle physiologique capital que jouent certains acides aminés dans le maintien de l'équilibre des adultes et dans la synthèse des tissus de l'animal en croissance. Ainsi, l'absence ou l'insuffisance quantitative des acides aminés dits « de synthèse » que l'organisme puise dans son alimentation, (1) arrête instantanément la croissance du jeune Rat.

Nous nous sommes intéressés alors au sort d'un greffon malin de sarcome de JENSEN, implanté dans un organisme ainsi carencé. L'absence dans l'alimentation de l'acide aminé, indispensable à la division des cellules somatiques saines, arrête-t-elle également la multiplication désordonnée des cellules tumorales ? Ou bien, ces dernières, douées de potentialités particulières, obéissant à des lois différentes, peuvent-elles se passer de l'aliment spécifique et élaborer encore, en son absence, leur protoplasme pathologique ? Nous avons

(1) Nous sommes heureux d'exprimer ici toute notre reconnaissance à Monsieur le Professeur E. F. TERROINE et à ses collaboratrices Mlles MOUROT et RAJZMANN, de l'Institut de Physiologie de la Faculté des Sciences de Strasbourg, pour les précieux conseils qu'ils nous ont si largement dispensés dans le choix des régimes alimentaires. Nous les remercions vivement de l'aide efficace qu'ils nous ont apportée pour le dosage de certains amino-acides et la préparation de substances alimentaires azotées non commercialisées.

varié les conditions d'expérience afin de rendre cette carence plus efficace.

Dans la seconde partie, nous envisagerons un chapitre de la bio-pathologie de la tumeur de JENSEN du Rat. Nous avons eu, au cours de recherches s'étendant sur plus de deux années, l'occasion de pratiquer de nombreuses greffes chez les Rats appartenant à l'élevage du Laboratoire. Ceci nous permet d'apporter une contribution personnelle à la question de l'immunité cancéreuse, spontanée ou acquise (grossesse), et d'étudier la transmission éventuelle de cette immunité au cours de l'hérédité.

Nous mentionnerons enfin les résultats de quelques expériences entreprises pour étudier l'action, sur la croissance du sarcome de JENSEN, des extraits hypophysaires, d'une spécialité médicamenteuse de sels de plomb, et celle d'une alimentation à base de placenta humain (1).

(1) Une partie des résultats obtenus ont été publiés dans une communication préliminaire: R. COURRIER et G. COSTE, Cancer et acides aminés indispensables à la croissance. C. R. Soc. Biologie, t. 115, p. 631, 1934.

PREMIERE PARTIE

INFLUENCE DE L'ALIMENTATION
EXPERIMENTALE SUR LE CANCER

CHAPITRE PREMIER

LES BESOINS AZOTES DES ORGANISMES NORMAUX ET LA VALEUR BIOLOGIQUE DES DIFFERENTS ACIDES AMINES

Dans le premier tome d'un ouvrage qui comprendra la physiologie de toutes les matières azotées, Monsieur le Professeur E. F. TERROINE vient tout récemment d'exposer, avec une admirable clarté, la question des besoins azotés des organismes, la détermination de leur grandeur et de leur nature.

A côté de l'albumine circulante qui brûle pour donner de l'énergie (métabolisme exogène), il existe une albumine fixée (FOLIN) correspondant au métabolisme endogène: c'est l'albumine protoplasmique qui s'use par suite du fonctionnement de l'organisme (1). A ce besoin irréductible d'azote correspondant à l'usure du protoplasme, s'en ajoute un autre chez l'animal en croissance, il lui faut des matières protéiques pour construire ses organes et augmenter la masse de sa substance vivante.

En dehors du besoin d'entretien, il y aura donc chez le jeune un besoin pour le développement.

L'étude de la couverture de ces besoins azotés a conduit à des données fondamentales en ce qui concerne l'aptitude des différentes matières protéiques à satisfaire l'organisme.

(1) Il ne nous appartient pas de discuter la signification profonde du besoin azoté qui donna lieu à de nombreux travaux et à plusieurs doctrines (se reporter à l'ouvrage de TERROINE et au mémoire de M. A. ROCHE).

Ces matières protéiques n'ont pas toutes la même constitution et les faits démontrent qu'elles ont des valeurs biologiques différentes.

La méthode des poids et la méthode des bilans permettent d'établir une classification des protéiques selon leur valeur nutritive.

C'est ainsi que la gélatine, quelle qu'en soit la quantité, ne peut réparer l'usure protoplasmique ; elle sert comme énergétique et non comme plastique. L'édestine du chanvre, les protéines musculaires, l'ovalbumine, la caséine, la gliadine du blé, l'hordéine de l'orge sont aptes à couvrir le besoin d'azote chez l'animal adulte, tandis que la zéine du maïs en est incapable.

Parmi les protéiques aptes à couvrir les besoins azotés de l'adulte, il faut encore établir une distinction : certaines peuvent fournir l'azote nécessaire au développement du jeune être, d'autres en sont incapables. Il suffit pour étudier la question d'établir la courbe d'augmentation de poids chez un jeune animal nourri avec ses aliments habituels (courbe de croissance normale), et de noter d'autre part, les variations de poids de cet individu quand on introduit dans sa ration, complète par ailleurs, la protéine à étudier.

On constate que sont aptes pour le maintien de l'adulte et la croissance du petit : protéines de viande, caséine, ovalbumine, lactalbumine, édestine. Sont aptes pour le maintien de l'adulte et inaptés pour la croissance : la gliadine, l'hordéine, les protides de la carotte et du cacao. Sont inaptés pour le maintien et la croissance : la gélatine, la zéine, l'élastine, par exemple.

Le problème a été poussé plus loin et l'on s'est rendu compte que parmi les protéines aptes à couvrir les besoins de l'adulte ou à assurer la croissance du jeune, on pouvait noter encore des différences et établir une hiérarchie. Il y a une différence d'efficacité parmi les protéines efficaces, la quan-

tité nécessaire au maintien du poids ou à la croissance varie suivant les protéines envisagées.

Si l'on dresse alors un tableau de la composition des différentes protéines en acides aminés, on peut faire immédiatement des constatations du plus haut intérêt.

Le glycocolle par exemple n'existe pas dans la caséine, or celle-ci peut assurer le maintien du poids et la croissance, cet acide aminé n'est donc pas nécessaire. Les protéines bonnes pour le maintien et inaptes à la croissance ne renferment pas de lysine, cet acide aminé sera sans doute indispensable à la croissance. Le tryptophane fait défaut chez les protéines inaptes au maintien du poids comme à la croissance, il doit donc être indispensable à l'équilibre azoté.

On arrive ainsi à penser que l'aptitude des diverses protéiques à assurer le maintien du poids ou la croissance, est étroitement subordonnée à leur constitution chimique, à la nature et à la quantité des divers acides aminés qui entrent dans la composition de leur molécule.

L'organisme a besoin au total pour se maintenir et pour s'accroître d'un certain nombre d'acides aminés dont il ne peut faire la synthèse aux dépens de l'azote indifférencié. L'organisme est incapable de réaliser certaines synthèses, il est en particulier inapte à la cyclopoïèse, il lui faut puiser dans sa nourriture certains acides aminés, surtout ceux qui ont des noyaux cycliques, pour remplacer son protoplasme qui s'use ou pour augmenter la masse de sa substance vivante, en bref pour subvenir à son besoin plastique.

On a pu établir des tableaux (consulter le livre de TERROINE) de valeur biologique des acides aminés; à côté de ceux qui sont inutiles ou de nécessité douteuse (glycocolle, acide glutamique, acide aspartique), il faut noter que le *tryptophane* et l'*histidine* sont indispensables à l'entretien de l'organisme; la *lysine*, la *cystine* et l'*histidine* sont de nécessité certaine pour la croissance.

Ainsi doit être présentée la conception actuelle du méta-

bolisme protéique. L'ancienne conception qui consistait à n'attribuer à l'alimentation protéique de valeur que dans la mesure où elle apportait de l'azote, sans se préoccuper de la *qualité* de cet azote, est erronée.

Avec RUBNER, apparaît l'idée de la qualité, et cette notion de qualité triomphe à la suite des travaux importants de l'école américaine. Il s'agit de donner à l'organisme du tryptophane (ou plutôt le noyau indol), de l'histidine (ou plutôt le noyau imidazol) etc...

Ce besoin de noyaux est la caractéristique des animaux supérieurs. Les êtres dits inférieurs ont un pouvoir de synthèse beaucoup plus élevé. C'est ainsi que la levure peut élaborer sa molécule protéique avec de l'ammoniaque seulement. Le bacille d'EBERTH est un peu plus exigeant; pour construire son protoplasme il aurait besoin d'un noyau, mais d'un seul : le noyau indol (BRAUN et CAHN-BROUNER). D'après PINOY et LANTZ, le parathyphique B est moins exigeant que le bacille d'EBERTH puisqu'il se contente comme unique source d'azote du lactate d'ammoniaque (1).

Les êtres supérieurs conservent encore une partie de l'appétitude ancienne à la synthèse, puisqu'une fraction importante de leur besoin azoté est couverte par l'ammoniaque, mais ce pouvoir de synthèse est singulièrement affaibli.

Nous nous sommes demandé si cet affaiblissement des potentialités synthétiques était général pour toutes les cellules des êtres supérieurs. Certaines d'entre elles peuvent subir une déviation pathologique extraordinaire, nous voulons parler des *cellules cancéreuses*. Elles ont des propriétés de croissance remarquables et cette croissance est non seulement illimitée, mais encore impétueuse. Ces cellules néoplasiques ont-elles une puissance de synthèse supérieure à celle des éléments normaux ?

(1) Nous remercions vivement M. le Professeur PINOY qui a bien voulu nous fournir ces divers renseignements.

CHAPITRE II

LES BESOINS NUTRITIFS DE LA CELLULE CANCEREUSE ETUDIES PAR LA METHODE DES CULTURES DE TISSU

Dans son livre remarquable sur la Culture des tissus, B. EPHRUSSI donne d'excellents renseignements sur l'étude de la nutrition des cellules néoplasiques *in vitro*. Aussi lui ferons-nous de larges emprunts. Toutes les cellules cancéreuses, dit-il, semblent être moins difficiles quant au choix des substances nutritives, que les cellules normales, et les différentes variétés de ces éléments néoplasiques montrent toute une gamme de pouvoirs de synthèse. Le macrophage du sarcome de Rous, comme d'ailleurs le macrophage normal, sait synthétiser son protoplasme à partir des protéines du sérum sanguin; les cellules carcinomateuses montrent encore cette même propriété par opposition aux épithéliums normaux; elles peuvent en outre utiliser l'extrait embryonnaire inactivé par la chaleur, qui ne peut pas couvrir les besoins nutritifs des cellules épithéliales et conjonctives normales. De même, les fibroblastes malins du sarcome de JENSEN peuvent se nourrir des protéines du sérum. Les fibroblastes du sarcome du CROCKER n'en sont pas capables et apparaissent comme des cellules plus difficiles; le seul caractère qui au point de vue de leur physiologie de la nutrition permet de

les distinguer des fibroblastes normaux, est la faculté de proliférer indéfiniment dans les produits du foie : ces cellules savent élaborer leur substance vivante à partir d'une dégradation plus poussée de la molécule protéique que les cellules normales. Ces remarques d'EPHRUSSI nous intéressent au plus haut point.

Nous en retiendrons surtout ce qui concerne les besoins nutritifs des cellules du sarcome de JENSEN. Nous reviendrons plus tard sur ce cancer du Rat qui est un excellent objet d'étude, car il se transmet admirablement par greffe d'animal à animal. CARREL et EBELING (1928) ont pu cultiver à l'état pur les fibroblastes malins de cette tumeur. Si on la cultive dans des flacons de CARREL en prenant comme milieu du plasma coagulé de Poule et du sérum de Rat, les macrophages disparaissent après quelques jours de passage et l'on obtient des cultures pures de fibroblastes malins qui ont pu être entretenues par CARREL et EBELING d'une façon permanente; ils conservent après plusieurs mois de vie *in vitro* toute leur malignité.

Or, les conditions nutritives, dans lesquelles se produit *in vitro* la prolifération active des fibroblastes normaux, ont été analysées par CARREL et ses collaborateurs.

Une croissance permanente n'est réalisée qu'en présence de *l'extrait embryonnaire* qui contient des substances actives dénommées *tréphones* par CARREL en attendant une identification plus précise. CARREL a montré que le sérum sanguin d'un individu adulte qui remplit les mailles du réseau de fibrine dans le coagulum de plasma que l'on utilise pour les cultures, ne suffisait pas pour couvrir les besoins nutritifs d'une très grande partie des tissus normaux. Pour ceux-ci, l'aliment qui convient est *l'extrait embryonnaire* obtenu en broyant de jeunes embryons de Poulet et en utilisant le liquide surnageant après centrifugation. Lorsqu'on ajoute cet extrait au plasma adulte, on obtient non seulement la survie, mais aussi la véritable croissance : l'augmentation

continue de la matière vivante, la synthèse de nouveau protoplasme aux dépens du milieu nutritif inerte.

CARREL et FISCHER ont montré que ce sont surtout les *protéoses* de l'extrait embryonnaire qui sont actives, et ces substances constituent l'aliment par excellence des fibroblastes normaux. On peut d'ailleurs extraire les tréphones des embryons non seulement de Poulet mais aussi de Rat, de Lapin, de Cobaye; il n'y a pas de spécificité zoologique. Les tréphones sont d'une extrême fragilité, rapidement détruites par la chaleur (totalement à 70°), inactivées par filtration sur bougie; leurs propriétés nutritives sont liées à la fraction protéique de l'extrait embryonnaire et non aux lipoïdes. Ce qui est important à signaler, c'est que si l'on soumet l'extrait embryonnaire à l'hydrolyse peptique, on constate que les tréphones sont détruites au fur et à mesure que l'hydrolyse est plus avancée. Les fibroblastes utilisent en somme les premiers termes de l'hydrolyse de la molécule protéique, il faut que le rapport $\frac{\text{Azote total}}{\text{Azote aminé}}$ reste assez élevé pour que l'ac-

tivité des produits d'hydrolyse soit conservée. Après cinq heures d'hydrolyse, la croissance de la culture est excellente; après trente-deux heures, le fibroblaste ne prolifère plus.

Mais il faut remarquer avec EPHRUSSI que si les protéoses, grâce à leur grande valeur nutritive, représentent la majeure partie des tréphones, elles n'en représentent pas la totalité; à côté de protéoses qui sont stables, il y a dans les tréphones embryonnaires des produits instables, de nature enzymatique peut-être, qui eux aussi sont indispensables à la culture.

Or, ce qu'il nous faut souligner avant tout c'est que si les tréphones, dont nous avons à dessein détaillé les propriétés, sont absolument indispensables à la culture et à la prolifération *in vitro* des fibroblastes normaux, elles sont inutiles pour la multiplication indéfinie des fibroblastes sarcomateux en culture. Si l'on cultive des fibroblastes normaux de

Rat dans du plasma de Rat sans y ajouter de l'extrait embryonnaire, les fibroblastes meurent après quelques jours de prolifération, qui s'effectue d'ailleurs aux dépens des produits d'autolyse des fibroblastes déjà tués. Si, par contre, les fibroblastes du sarcome de JENSEN sont cultivés dans du plasma de Rat sans tréphones, ils se multiplient avec intensité et indéfiniment, à condition de renouveler le milieu nutritif et d'éliminer les déchets. Bien plus, l'extrait embryonnaire ne peut être utilisé par les fibroblastes malins qu'après une période d'accoutumance, ils sont tout d'abord gênés par la présence de cet extrait.

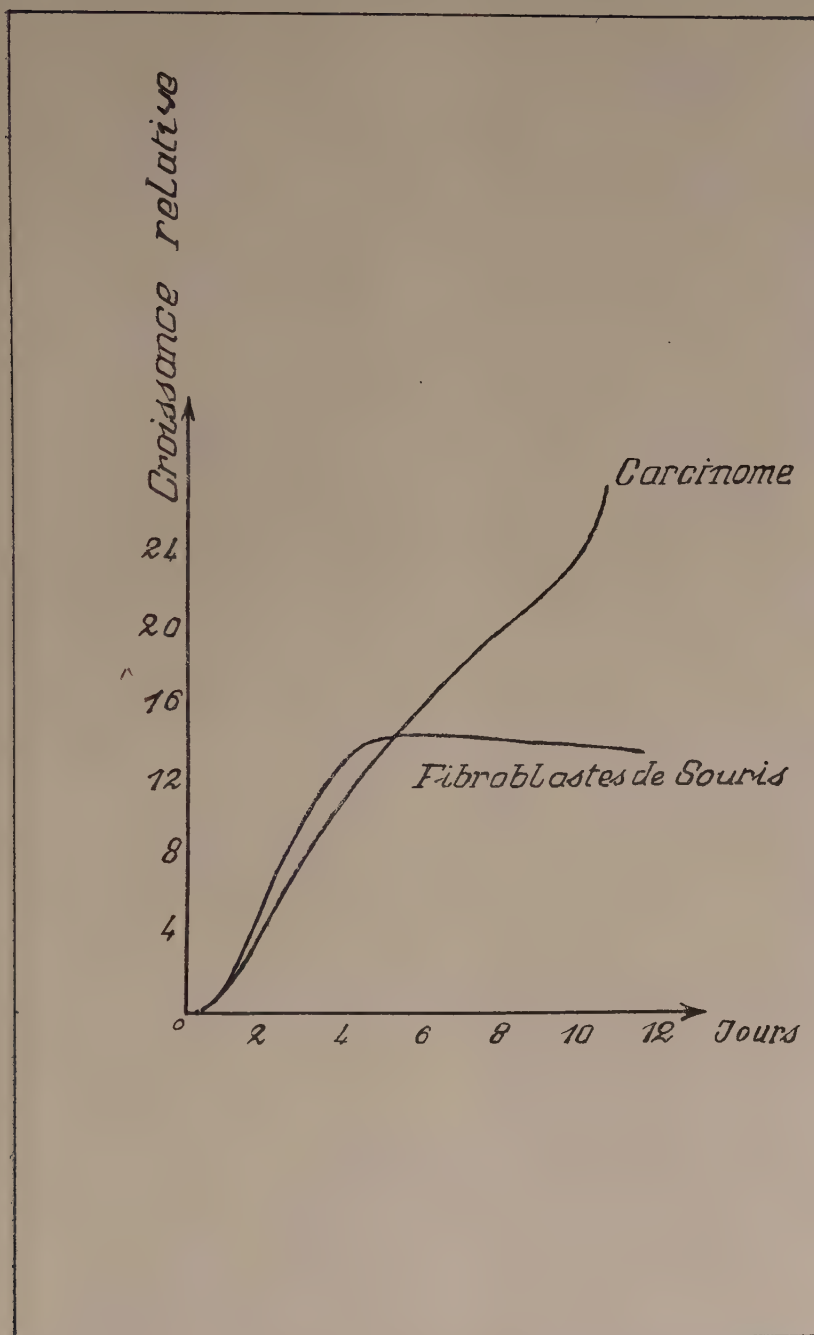
FISCHER (1927) a étudié également la question des besoins nutritifs comparés des cellules normales et des cellules cancéreuses en culture, et il résume ainsi les résultats enregistrés: les cellules fixes des tissus normaux ne peuvent utiliser dans la synthèse de leur protoplasme que certains produits de décomposition de la protéine (tréphones, protéoses), pendant que les cellules malignes peuvent employer aussi des substances contenues dans le sérum sanguin d'un adulte.

Les tissus malins sont donc plus modestes en ce qui concerne les conditions nutritives du milieu.

Nous reproduisons ici l'une des figures données par FISCHER qui illustre remarquablement les différences dans les potentialités synthétiques des cellules normales et néoplasiques.

Le graphique indique que si l'on cultive dans du sérum de Rat adulte les cellules d'un adéno-carcinome de Souris et des cellules normales (fibroblastes ou cellules épithéliales), pour ces dernières la courbe de croissance montre un plateau, la multiplication cellulaire s'arrête en 5 ou 6 jours, tandis que le tissu carcinomateux continue à s'accroître lentement mais constamment.

Nous avons indiqué plus haut que l'étude du rapport
Azote total
montrait qu'il était jusqu'à présent très diffi-
Azote aminé



Graphique N° 1. — Courbes traduisant la croissance relative, appréciée en évaluant la surface d'une culture de fibroblastes normaux et de cellules carcinomateuses. (d'après FISCHER).

cile d'étudier *in vitro* la valeur des acides aminés libres au point de vue nutritif, les cellules normales utilisent de préférence les premiers produits de l'hydrolyse de l'extrait embryonnaire. Tout se passe comme si les cellules, et en particulier les fibroblastes, ne pouvaient faire la synthèse du protoplasme aux dépens des acides aminés libres, mais aux dépens de chaînes plus complexes. C'est la conclusion à laquelle arrive EBELING en 1924 (C. R. S. B., janvier 1924). Pour lui, les différents acides aminés étudiés (lysine, arginine, histidine, tryptophane, etc.) sur la croissance des fibroblastes *in vitro* ne peuvent être utilisés directement par ces cellules.

Cependant dans le laboratoire de J. VERNE, ODIETTE a pu montrer l'influence de certains acides aminés sur les cultures *in vitro*. Il entretient en culture des élastoblastes normaux prélevés sur un fragment de paroi aortique; il ajoute certains acides aminés au milieu et constate que le tryptophane, le glyocolle, la proline, etc... augmentent le coefficient mitotique, représenté par le nombre des mitoses au millimètre carré dans la zone d'invasion. Chose curieuse, la cystine, la lysine provoquent un abaissement du coefficient mitotique. Pour les témoins il est de 8, il passe à 12 avec le glyocolle, à 10 avec le tryptophane, à 4 avec la cystine, à 5 avec la lysine.

Or, on sait l'influence de ces deux derniers acides aminés sur les processus de croissance de l'organisme.

Nous ne connaissons pas de recherches analogues étudiant l'action des acides aminés sur la croissance *in vitro* des éléments néoplasiques. Quoiqu'il en soit, nous avons vu que ceux-ci semblent bien se distinguer des cellules normales quant à leur métabolisme. WARBURG a insisté sur leur pouvoir glycolytique; on connaît aussi leur propriété protéolytique, la facilité avec laquelle ils liquéfient la fibrine, et leur aptitude à se nourrir aux dépens des tissus placés à leur contact.

Mais les récentes recherches de FISCHER à l'aide de sa technique de cultures « *au ralenti* » semblent cependant atténuer la différence de métabolisme entre les cellules normales et néoplasiques. La question des *tréphones* est examinée sous un jour nouveau.

Par un procédé particulier de « cultures lentes », FISCHER vient de démontrer que la culture des cellules normales est possible sans tréphones; il suffit de blesser ce tissu à vie ralentie et sans mitose, en enlevant un fragment, pour que la prolifération cellulaire se fasse et comble la perte, il y a cicatrisation *in vitro*. Une culture de tissu normal, blessée chroniquement (la blessure est réalisée par l'ablation d'un petit fragment) croît beaucoup plus rapidement qu'une culture contrôle non lésée, les deux cultures se trouvant dans des conditions identiques de milieu; les cellules blessées sur la zone de lésion libèrent des substances de croissance analogues à l'extrait embryonnaire. Quand on étudie un tissu cancéreux en culture, on se rend compte que les phénomènes de nécrose sont très abondants et beaucoup plus importants que dans une culture de tissu normal, les foyers nécrosés libèrent des substances qui émanent des cadavres cellulaires et stimulent la prolifération des éléments voisins: ce sont les « *nécrohormones* » de CASPARI, que FISCHER identifie aux tréphones de CARREL et que dans une revue générale fort importante, GRYNFELTT assimile lui-même aux « hormones de blessure » d'HABERLANDT. La cellule cancéreuse est en réalité très fragile, grâce à son « aptitude à la mort », les substances qui dérivent de sa nécrose conditionnent la prolifération illimitée des fragments néoplasiques. C'est ce facteur qui explique, d'après FISCHER, la pullulation cancéreuse dans l'organisme. Le mécanisme de la croissance cancéreuse ne serait pas autre chose que le mécanisme des processus normaux de régénération, la blessure de tissu normal libère les nécrohormones déclanchant la prolifération cellulaire; la fragilité du

tissu cancéreux le transforme en un tissu éternellement blessé et en prolifération éternelle.

Il semble maintenant clairement démontré, dit FISCHER, que la prolifération illimitée des cellules tumorales est primitivement déterminée par le même processus physiologique que celui qui déclanche la régénération limitée d'un tissu normal. Il n'y a, continue-t-il, aucune raison d'admettre que la croissance des tumeurs *doive obéir à d'autres lois qu'à celles de la croissance normale*. Il a été impossible par des recherches chimiques de mettre en évidence des différences entre les cellules normales et les cellules tumorales. Ces dernières se trouveraient simplement dans un état de destruction chronique provoquant une régénération physiologique. Le pouvoir glycolytique serait simplement le fait des éléments en prolifération intense (1). En somme, aucune des propriétés chimiques enregistrées au niveau des cellules cancéreuses *in vitro* n'est spécifique, elles appartiennent à d'autres cellules, en particulier aux leucocytes.

On peut conclure de cet exposé que si la technique de cultures *in vitro* a semblé apporter avec les premières recherches sur les tréphones une caractéristique dans la cyto-chimie des éléments cancéreux, les différenciant des cellules normales, il semble après les recherches toutes récentes de FISCHER que cette différence doit être bien atténuée.

(1) Le pouvoir glycolytique élevé en anaérobiose n'est pas une propriété spéciale aux tumeurs, mais bien plutôt une propriété des tissus en voie de croissance (WARBURG).

CHAPITRE III

LES ACIDES AMINES DE CROISSANCE ET LA PROLIFERATION NEOPLASIQUE

Nous avons songé à aborder d'une autre façon *le problème des besoins nutritifs de la cellule cancéreuse*.

Nous avons vu précédemment que pour bâtir la matière vivante, l'organisme a besoin d'un certain nombre d'acides aminés. Ces acides aminés indispensables, ce sont les « bausteine » de KOSSEL, les « pierres à bâtir » qu'apportent les protéines alimentaires. Nous savons que dans les processus de construction du protoplasme, il faut distinguer : le maintien de l'adulte (correspondant à l'usure), et la croissance du jeune. Parmi les acides aminés importants, signalons surtout le tryptophane et la lysine. Le tryptophane est indispensable au maintien, la lysine indispensable à la croissance.

Si, comme OSBORNE et MENDEL (1912) l'ont fait, on choisit de jeunes Rats dont la croissance antérieure se présentait comme normale, et si on les soumet à une alimentation complète par ailleurs, mais déficiente en lysine, leur croissance s'arrête brusquement, ils survivent néanmoins et la courbe de leur poids prend la forme d'un plateau; on s'est en effet arrangé pour que le régime renferme le tryptophane indispensable au maintien et comblant les pertes d'usure.

Les expériences d'OSBORNE et MENDEL démontrent donc que la lysine est nécessaire à la synthèse de nouveau protoplasme,

elle sert à l'édification des organes où sa présence est connue, comme par exemple le tissu musculaire, dans lequel l'azote de la lysine représente environ 10 % de l'azote total.

Sans lysine l'organisme ne peut s'accroître. Nous nous sommes alors demandé s'il en serait de même au cours de la croissance impétueuse d'un cancer? Le tissu néoplasique a-t-il besoin de lysine pour proliférer comme un tissu somatique normal? Nous arrivons de cette façon à considérer sous un autre angle les besoins nutritifs de la cellule cancéreuse, en les étudiant non plus *in vitro*, mais *in vivo*. La question est de savoir si un animal soumis à un régime alimentaire dépourvu de lysine peut encore devenir cancéreux; l'animal peut vivre sans lysine et, s'il est adulte, il restera normal, mais peut-il encore héberger en un point de son organisme une prolifération néoplasique?

Le problème se pose d'autant plus que la teneur des tumeurs malignes en bases hexoniques (1) est particulièrement élevée. En 1915, A. KOCHER a chimiquement dosé les acides diaminés dans cinq cas de tumeurs malignes; il s'agissait de carcinomes du larynx, de l'estomac, de l'iléon, et de lymphosarcomes chez l'homme.

Nous ne voulons pas ici nous étendre sur le détail des résultats chimiques, nous signalerons simplement que les dosages de KOCHER révèlent que la teneur de ces parenchymes cancéreux en bases hexoniques est environ le *double* de celle des tissus normaux.

Il était donc particulièrement intéressant d'étudier le comportement des cellules néoplasiques chez les animaux dont l'alimentation serait dépourvue de lysine, étant donné qu'un organisme normal ne sait pas effectuer la synthèse de cette substance qui lui est indispensable pour s'accroître.

Nous avons entrepris des travaux personnels sur ce pro-

(1) Les bases hexoniques sont la lysine, l'arginine, l'histidine; ce sont des acides diaminés.

blème. Mais avant de les exposer, nous tenons à mentionner au préalable des expériences antérieures aux nôtres que des recherches bibliographiques toutes récentes viennent seulement de nous faire connaître. On se rendra compte qu'avant nous, certains auteurs avaient déjà envisagé le problème.

RECHERCHES DE NOS DEVANCIERS

En 1913, SWEET, CORSON-WHITE et SAXON ont étudié l'influence du régime et de la castration sur les tumeurs transmissibles du Rat et de la Souris.

Voici le régime qu'ils donnent à leurs animaux :

Gluten de blé	18	%
Amidon	24,5	%
Lard	27	%
Lactose	23	%
Mélange salin	2,5	%
Agar	5	%

Ils utilisent l'adénocarcinome de FLEXNER-JOBLING chez le Rat et le carcinome 33 de l'Institut Rockefeller chez la Souris; ils les transmettent par greffe.

Ils constatent que le nombre des reprises des greffons est réduit chez les animaux soumis au régime, d'autre part la vitesse de croissance de la tumeur est ralentie et le nombre des régressions est plus élevé que chez les témoins greffés. Ils remarquent en outre que la castration des mâles les rend plus réceptifs à la tumeur et que le greffon s'accroît chez eux plus vite que normalement. Ils notent, entre autres résultats, 74 % de reprises chez les normaux, 24 % chez les animaux qui sont soumis au régime expérimental, et 88 % chez les animaux castrés.

Nous verrons plus loin que nous n'avons pas obtenu dans nos expériences une différence dans le pourcentage des reprises des greffons tumoraux chez les témoins et chez les animaux en expérience, notre pourcentage des reprises chez les sujets normaux est d'ailleurs bien plus élevé que celui des auteurs américains.

En ce qui concerne le régime dont ils se sont servis, nous devons faire deux remarques.

1° Les auteurs ne se sont pas assez souciés du besoin en vitamines de leurs animaux, or, comme nous le dirons, la carence en vitamines a une action particulièrement nette sur la croissance néoplasique.

2° SWEET et ses collaborateurs choisissent comme protéique du *gluten total* obtenu en lavant à l'eau de la farine de froment. Il est certain, comme ils le remarquent, que la préparation de ce gluten est beaucoup plus rapide que celle de la *gliadine*, substance employée par OSBORNE et MENDEL dans leurs expériences sur l'arrêt de croissance chez les jeunes Rats. Mais, à notre avis, l'expérience est moins concluante quand on s'adresse au gluten total. Cette substance renferme en effet, à côté de la gliadine, d'autres matières protéiques et en particulier de la *gluténine*. La gliadine contient peu de lysine, nous verrons d'ailleurs que sa teneur en lysine a été évaluée par plusieurs auteurs qui ont indiqué des chiffres différents.

Dans certains tableaux d'OSBORNE et MENDEL, on trouve que la gliadine présente 1,21 % de lysine et que la gluténine en contient 1,92; d'après MITCHELL, les protéines de blé renferment 2,6 % de lysine, c'est environ la quantité nécessaire pour assurer une croissance normale de Rats d'après OSBORNE et MENDEL eux-mêmes.

On a le droit de se demander si dans de telles conditions le régime de SWEET et de ses collaborateurs apportait une déficience vraiment spécifique en substance azotée. Nous ne

le croyons pas. Les résultats obtenus par eux ressortissent sans doute beaucoup plus à la sous-alimentation qu'à la carence de lysine.

La sous-alimentation a, en effet, une influence fort nette sur l'évolution cancéreuse. MORESCHI, le premier, a étudié cette question, il a montré que chez les Rats sous-alimentés, dont le poids diminue, la greffe de cancer expérimental reprend moins facilement que chez les Rats bien nourris.

En 1915, à l'Institut Rockefeller, PEYTON ROUS essaya de vérifier les expériences de SWEET; il constata au préalable que les Rats sous-alimentés, dont le poids diminue, font moins de cancer par greffe que les Rats normaux. Les greffes s'accroissent dans la proportion de 68 % chez les animaux de contrôle et dans 41 % des cas chez les Rats mal nourris. En reprenant les recherches de SWEET, il se rend compte que les résultats semblent dus beaucoup plus à la sous-alimentation qu'au caractère spécial du régime. Le pourcentage le plus bas est obtenu avec les animaux dont le poids diminue le plus rapidement au moment de la greffe, ce poids peut baisser de 24 % en cinq semaines.

Mais, au cours de la sous-alimentation, il n'y a qu'une sorte de torpeur, de latence du cancer: si le régime redevient normal, le cancer récupère son activité prolifératrice. En somme, le cancer est atteint par la sous-alimentation comme le reste de l'organisme. Il est probable, dit P. Rous, que la torpeur du néoplasme est due à l'arrêt du développement du stroma qui fournit les vaisseaux sanguins à la tumeur. Le cancer, quoique autonome, n'est pas absolument indépendant de l'organisme, on sait qu'il s'accroît plus lentement chez les vieillards et qu'une atteinte d'érysipèle, par exemple, peut rendre un cancer cutané stationnaire ou même le faire régresser.

La question de l'influence de la ration protidique sur l'évolution d'un néoplasme a été reprise en 1923 par W. CRA-

MER. Quand, souligne CRAMER, des Rats sont nourris avec un régime riche en vitamines, mais dans lequel toutes les protéines sont apportées par la farine de maïs, qui contient très peu de tryptophane (environ 1,68 % de sa gluténine), les animaux tombent dans un marasme qui ressemble à l'avitaminose B, il y a perte de poids, etc...

Si l'on greffe alors un fragment de sarcome à un Rat n'ayant pas assez de tryptophane dans sa ration, et dont le poids baisse, le *greffon tumoral s'accroît cependant*. La cellule tumorale aurait ainsi le pouvoir de créer pour elle, les conditions nécessaires à son développement.

Les résultats de CRAMER s'opposeraient donc aux recherches que nous avons précédemment soulignées. Elles démontreraient que le tissu cancéreux a un métabolisme bien différent de celui du tissu normal.

En l'absence de tryptophane, le tissu normal ne peut effectuer les synthèses indispensables à son bon fonctionnement, tandis qu'au cours de la même carence, le tissu néoplasique prolifère intensément.

Mais, les conclusions de CRAMER sont passibles d'une grave critique. Les Rats greffés, dont le cancer s'accroît, ont un poids qui baisse. Ne peut-on pas supposer l'existence d'un véritable transfert de matériaux organiques entre le portegreffe et sa tumeur ? Celle-ci trouverait ainsi au détriment de son hôte ce que ne lui apporte pas la ration alimentaire.

Un tel transport de certaines substances mobilisables à l'intérieur d'un même organisme a déjà été constaté; il suffit de rappeler l'exemple si classique du Saumon. On connaît les observations de MIESCHER et WEISS sur le Saumon du Rhin, celles de GREENE sur le Saumon américain dans la rivière Columbia. Ce poisson, un peu avant le frai, remonte certains fleuves et séjourne dans l'eau douce sans s'alimenter durant plusieurs mois. Or pendant ce temps, les testicules de l'animal se développent considérablement. Ils ne peuvent le

faire qu'aux dépens des autres tissus. Ce sont les protéines musculaires qui font les frais de l'édification des spermatozoïdes.

De même, comme le souligne M. ABELOOS, dans son beau livre récent sur la *Régénération*, un des caractères les plus curieux de la régénération est la restitution d'un organe perdu chez un animal soumis à l'inanition complète et dont les parties anciennes sont en voie d'amaigrissement.

Il y a indubitablement transport de matériaux nutritifs des tissus conservés vers les tissus qui régénèrent. Il s'agit là d'un problème de la plus haute importance et encore presque totalement inconnu : le mécanisme de la répartition des matériaux nutritifs entre les différentes parties d'un même organisme.

Nous reviendrons plus tard sur cette importante question du transfert de certaines substances à l'intérieur d'individus quand nous ferons la critique de nos propres expériences, nous mentionnerons alors à ce sujet les recherches très importantes de M. A. ROCHE sur la « dislocation sélective » des protéines musculaires au cours de l'inanition protéique.

Il est donc difficile de tirer une conclusion précise au sujet de la question que nous nous sommes posée, en se basant sur les résultats de SWEET, de ROUS et de CRAMER.

Nous mentionnerons pour terminer ce chapitre bibliographique, les essais thérapeutiques récents à base d'acides aminés entrepris par VLÈS et DE COULON sur les cancers spontanés de la Souris. Le point de vue de ces auteurs est bien différent du nôtre puisqu'ils étudient l'action thérapeutique de certains acides aminés, principalement de la cystine, par *l'apport d'une surcharge de ces amino-acides*, en plus de ceux qui sont ingérés avec les aliments.

La base de leurs recherches est une étude sur les points iso-électriques (point d'inversion de transport) des constituants de l'organisme. Les auteurs ont constaté que les points

iso-électriques des tissus de la Souris blanche ont une valeur à peu près constante dans l'animal adulte normal, mais sont sujets à des variations plus ou moins considérables à la suite de diverses modifications physiologiques ou pathologiques; les tumeurs en particulier provoquent de telles perturbations.

Ils ont vu ensuite que l'injection de certaines substances pouvait « décaler » les points iso-électriques tout comme les tumeurs. Ils ont alors eu l'idée d'agir sur ces tumeurs à l'aide de ces substances. C'est ainsi qu'ils furent amenés à injecter certains acides aminés ; ils ont constaté qu'ils pouvaient, de cette façon, agir sur l'évolution des néoplasmes. Abandonnant alors le problème des points iso-électriques, ils étudient uniquement l'influence de certains mélanges d'amino-acides sur la réceptivité des animaux aux greffes cancéreuses ou aux tumeurs de goudron cancérigène, ou aux tumeurs spontanées. Ils injectent sous la peau des animaux des mélanges d'amino-acides (poudres agglomérées en baguette dure). Le mélange (cystine, alanine, proline) III B amène des régressions et même des disparitions complètes de tumeurs.

Ils ajoutent ensuite à ce mélange III B, de la poudre de paroi digestive et des extraits de certaines glandes endocrines. Cette longue suite de recherches, parties d'une étude des décalages des points iso-électriques dans la Souris pathologique, aboutit ainsi à mettre en jeu une *action frénatrice* très nette sur des cancers spontanés de cet animal au moyen d'un complexe contenant les acides aminés N° III B, de la poudre de tube digestif, et quelques extraits hormonaux. Le mélange fut donné en injection puis en ingestion. La présente technique fut essayée sur l'homme cancéreux et révéla « des traces des effets frénateurs » enregistrés sur les tumeurs de la Souris.

CHAPITRE IV

RECHERCHES PERSONNELLES

Le problème que nous nous sommes posé est le suivant : Le tissu néoplasique a-t-il besoin, comme un organisme normal, de lysine pour se développer? Un animal jeune, dont la croissance est arrêtée parce que son régime alimentaire présente une carence en lysine, peut-il encore devenir cancéreux ?

Le travail à réaliser nécessite des matériaux de deux sortes : d'une part, un *régime alimentaire* approprié, d'autre part, un *tissu cancéreux* avec lequel on puisse aisément expérimenter et donnant chez les témoins normaux des résultats bien homogènes.

LES CONSTITUANTS DU REGIME ALIMENTAIRE EXPERIMENTAL

Par addition ou retranchement de certains acides aminés, on actionne à volonté le maintien ou la croissance du poids, ainsi que l'ont vu OSBORNE et MENDEL.

Deux acides aminés sont intéressants à étudier à cet égard : la lysine et la cystine, appelés encore substances systatiques par RANDOUIN et SIMONNET. Les matières albuminoïdes à employer offrent un certain choix. Il est préférable, pour la

commodité de l'expérience, de s'adresser non à des substances trop déficientes, mais à des protides permettant le maintien du poids sans aucune addition, mais ne permettant pas la croissance : par exemple la *gliadine* du blé pour la déficience en lysine, et la *phaséoline* du haricot pour la déficience en cystine.

Dès l'abord, nous nous heurtons à une difficulté de technique : la gliadine et la phaséoline ne se trouvent pas dans le commerce, il est donc indispensable de les préparer nous-mêmes au laboratoire. Or, la préparation de la phaséoline est très longue et fournit un rendement extrêmement faible. Nous avons choisi la *gliadine* du blé qui amène une déficience en lysine ainsi qu'il le fut mentionné. Nous indiquerons plus loin que nous avons été amenés au cours de nos recherches à utiliser une seconde protéique : la *zéïne du maïs* qui ne renferme ni lysine, ni tryptophane.

GLIADINE DU BLÉ. — Cette protide a servi à T. B. OSBORNE et à L. B. MENDEL dans leurs mémorables recherches (1912) sur le rôle des constituants alimentaires dans la croissance des jeunes animaux. Ils ont démontré, qu'ajoutée comme protéique à un régime complet par ailleurs, cette substance était suffisante pour le maintien du poids, mais insuffisante pour la croissance normale, par suite de sa déficience en lysine.

Comment la prépare-t-on ? On sait que la farine de blé renferme en moyenne 70 % d'amidon et 12 % de gluten, qui contient lui-même la gliadine et la gluténine. *Le principe est le suivant* : on sépare le gluten de la farine en malaxant celle-ci sous un filet d'eau pour entraîner l'amidon. Le gluten est traité à l'alcool à 70°-80°, qui solubilise la gliadine et l'entraîne. On purifie ensuite la solution alcoolique de gliadine et on précipite cette dernière, soit par l'alcool absolu, soit par l'eau légèrement salée, soit par l'acétone.

De nombreux procédés sont basés sur ce principe. OSBORNE et MENDEL opéraient de la façon suivante : le gluten est bien lavé à l'eau pour enlever le reliquat d'amidon et les protéines solubles dans l'eau. On le traite ensuite, après l'avoir complètement desséché, par l'alcool à 70°; on filtre l'extract alcoolique de manière à avoir un liquide clair ne renfermant ni la gluténine, ni les autres protéiques insolubles dans l'alcool à 70°. L'extract alcoolique est concentré et la solution sirupeuse versée dans un grand volume d'eau froide, pour éliminer encore les substances solubles dans l'eau. La gliadine qui a été précipitée dans l'eau, est dissoute à nouveau dans l'alcool à 70°; la solution est versée dans un grand volume d'alcool absolu, la gliadine se précipite; on la laisse séjourner quelque temps dans l'alcool absolu frais, puis dans l'éther et on la sèche à l'air, on obtient une poudre neigeuse, bien soluble dans l'alcool à 70°. Cette poudre est la gliadine qui servira dans la constitution des régimes.

Cette technique a été utilisée par RANDOUIN et SIMONNET. G. BERTRAND et THOMAS emploient un procédé simplifié qui consiste à délayer du gluten sec dans un excès d'alcool à 70°, on chauffe le liquide en contact avec le gluten sous un réfrigérant ascendant pendant 24 heures, en agitant de temps à autre; on décante ensuite, on enlève la solution alcoolique, on ajoute de l'alcool frais à la pâte et on recommence une nouvelle extraction. Les solutions alcooliques sont ensuite réunies, filtrées, concentrées sous vide.

Le liquide sirupeux est versé en mince filet dans huit fois son volume d'eau froide, la gliadine est précipitée, lavée à l'eau fraîche et séchée.

Nous avons opéré nous-mêmes de la façon suivante : nous prenons du gluten de blé *Poulenc*; nous en faisons une pâte bien délayée avec de l'alcool à 70°, on ajoute de l'alcool de façon à rendre la pâte de plus en plus fluide, on la verse en-

suite dans un ballon de 3 litres et on ajoute de l'alcool à 70° de manière à avoir deux ou trois doigts d'alcool libre au-dessus de la surface du gluten. L'extraction est faite à froid; on agite le ballon le plus souvent possible. Après 5 à 6 jours de contact, on sépare la solution alcoolique de gliadine du résidu, en filtrant tout d'abord sur quatre ou cinq épaisseurs de gaze à pansement disposées au-dessus d'un tamis en toile métallique. Le liquide sirupeux est filtré à nouveau sur gaze et coton. On le laisse ensuite déposer plusieurs jours; l'extrait alcoolique se clarifie, on décante et on verse lentement et en agitant dans 10 volumes d'eau froide légèrement salée. La gliadine se précipite sous la forme de filaments blancs jaunâtres gluants. La précipitation est d'autant meilleure que le sirop est plus concentré. On lave à l'eau fraîche trois ou quatre fois, on égoute soigneusement la gliadine, puis on la reprend en solution alcoolique en ajoutant tout d'abord un peu d'alcool à 95°; quand la gliadine est liquéfiée, on ajoute de l'alcool à 70° et l'on chauffe légèrement, on obtient alors, une solution sirupeuse; on peut d'ailleurs l'étendre davantage par addition d'alcool à 70°, la précipitation dans l'eau sera moins bonne, il y aura plus de trouble, on perdra davantage de gliadine, mais la substance précipitée sera mieux purifiée. On verse ainsi la solution alcoolique plus ou moins étendue dans 8 à 10 volumes d'eau froide salée. La gliadine, précipitée une seconde fois, est rincée à l'eau fraîche, on la reprend encore par l'alcool à 95°, puis à 70°, et la solution alcoolique est précipitée une troisième et dernière fois dans un excès d'eau salée. La gliadine est bien lavée, on exprime l'eau et la substance est mise à sécher à l'étuve à 40° sur des plateaux de zinc. Elle se raccornit et jaunit. Après complète siccité, on la broie en poudre fine au moulin à café. Le procédé est simple, il ne nécessite pas d'appareils compliqués et surtout demande moins d'alcool que la technique d'OSBORNE et MENDEL. Nous verrons dans un instant

que la substance ainsi obtenue est, somme toute, assez purifiée.

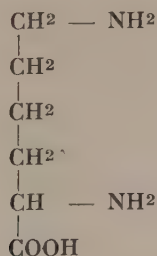
Quelle est la constitution de la gliadine ? — Cette matière protéique renferme une quinzaine d'acides aminés parmi lesquels nous ne citerons que les plus importants: arginine, histidine, lysine, cystine, tryptophane, tyrosine. Les chiffres de la teneur de la gliadine en ses acides aminés constituants sont différents suivant les auteurs, nous en donnerons quelques-uns ici; ils proviennent des travaux d'OSBORNE et MENDEL et du livre de MITCHELL et HAMILTON (1929) sur la Biochimie des amino-acides.

Arginine	Histidine	Lysine (1)	Cystine	Tryptophane	Tyrosine
5,4	3,4	1,3	1,1	0,7	1,4
4,7	4,3	1,6	1,6	0,6	1,3
5	5,9	0,6		0,9	2,2
3,4	2,19	1,21	1,17	1	2,37

Il s'agit de la teneur pour 100 gr. de gliadine.

On constate par l'examen du tableau que les chiffres, particulièrement ceux qui ont trait à la lysine, sont différents. Dans leur travail de 1912, OSBORNE et MENDEL indiquaient une teneur de 0,15 % de lysine dans leur gliadine. En 1915,

(1) La formule chimique de la lysine est la suivante : $C^6 H^{14} O_2 N^2$ ou développée :



c'est une base hexonique, un acide diaminé.

OSBORNE, Van SLYKE, LEAVENWORTH et VINOGRAD discutent la question, les chiffres sont variables suivant que l'on emploie la méthode de KOSSEL ou celle de Van SLYKE, nous n'avons pas à entrer dans ces détails; à cette époque, les auteurs estiment à 0 gr. 93 la quantité de lysine se trouvant dans 100 gr. de gliadine.

Il est probable que les variations des chiffres sont dues à l'inégale pureté des échantillons de gliadine soumis à l'hydrolyse ainsi qu'aux méthodes de dosage. La question est importante au point de vue qui nous occupe, il est indispensable que la teneur de la gliadine en lysine soit assez faible pour obtenir un arrêt de croissance chez les animaux soumis à l'expérience, les auteurs ont montré qu'il existait un *optimum* dans la quantité de lysine indispensable pour le développement normal.

Le tableau suivant, dressé par OSBORNE et MENDEL, indique clairement la valeur de la croissance en fonction de la teneur du régime en lysine:

	gliadine seule —	gliadine + lysine à raison de (1) :			
		1 % —	1,5 % —	2 % —	3 % —
Poids initial des Rats (gr.)	65,5	64,5	66,0	65,5	60,0
Gain de poids en 21 j. (gr.)	3,0	21,5	30,5	35,5	39,0

LEWIS et ROOT ont, par les mêmes procédés, confirmé ces résultats.

C'est pour cette raison que nous avons jugé indispensable de soumettre à l'analyse les échantillons de gliadine préparés par nous et entrant dans la constitution du régime alimentaire des animaux en expérience. Un premier dosage assez rapide, a été effectué dans le laboratoire de M. le Profes-

(1) Si l'on ajoute plus de 3 gr. de lysine à 100 gr. de gliadine, on ne provoque pas une croissance plus rapide.

seur TERROINE, par M. PERRET; le chiffre trouvé a été de 0,8 % de lysine. Une seconde analyse a été très minutieusement entreprise par Mlle MOUROT dans le même laboratoire, en utilisant la méthode de KOSSEL, modifiée récemment par BRADFORD VICKERY et LEAVENWORTH.

Voici le schéma de l'analyse:

- libération des bases hexoniques par hydrolyse acide.
- séparation de la lysine d'une part, de l'histidine et de l'arginine d'autre part, par précipitation de ces dernières sous forme de composés argentiques, en présence de baryte.
- précipitation de la lysine par l'acide phosphotungstique.
- mise en liberté de cette lysine par la formation de phosphotungstate de Baryum.
- formation d'un picrate de lysine pur.

En partant de 100 gr. de gliadine sèche, Mlle MOUROT a obtenu une masse de picrate de lysine sec pesant 0 gr. 822 (point de fusion 252°-254°) ce qui représente 0,33 % de lysine, compte tenu des prises faites pour les KJELDAHL.

Nous nous en tiendrons à ce chiffre de 0 gr. 33 de lysine pour 100 gr. de gliadine, le dosage ayant été pratiqué d'une façon particulièrement rigoureuse.

La gliadine, que nous avons préparée, est dans un état de pureté satisfaisant quand on compare sa teneur en lysine à celle qu'indiquent les chiffres donnés précédemment. Nous allons donc pouvoir utiliser cette substance dans nos régimes alimentaires.

Préparation du régime

Dans leurs premières recherches de 1912, OSBORNE et MENDEL donnaient à de jeunes Rats en croissance, pesant de 40 à 60 gr. le régime synthétique suivant:

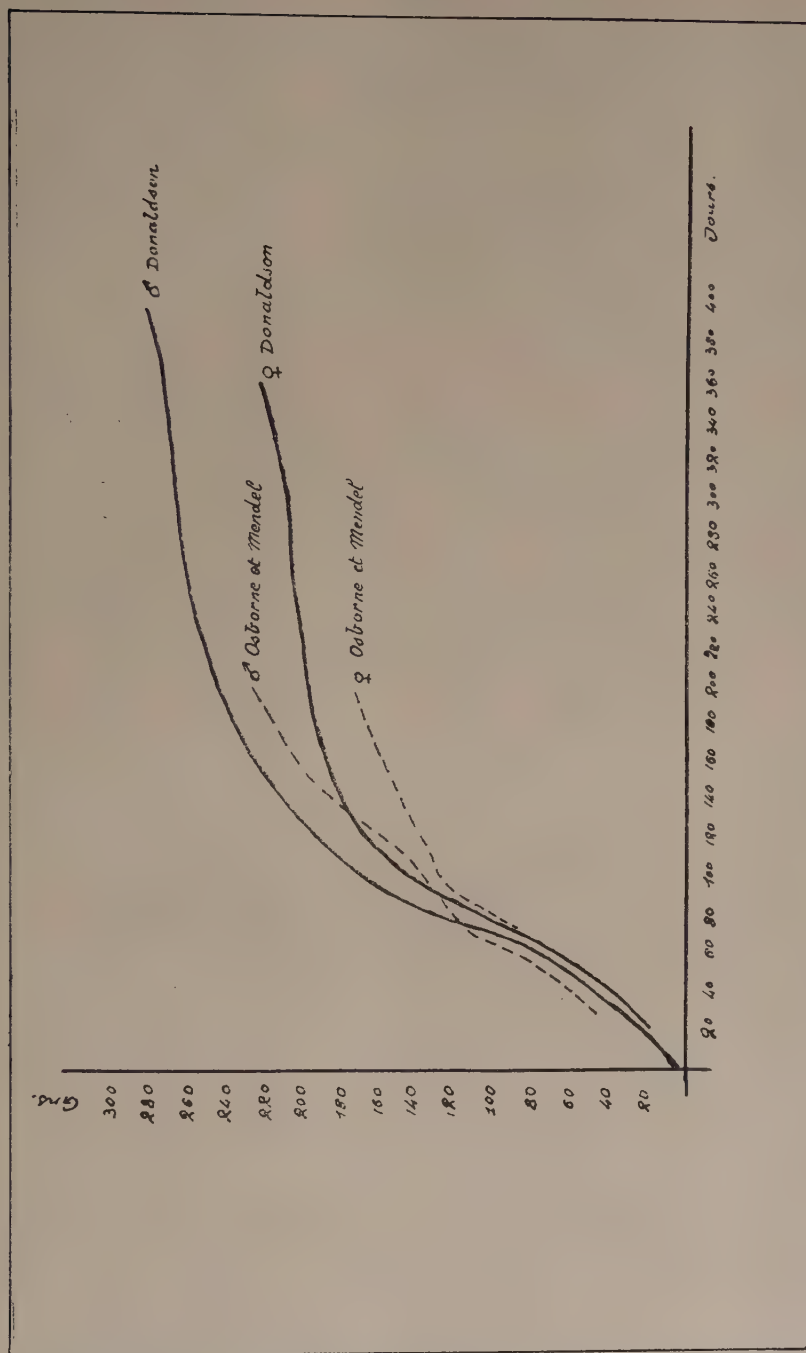
Gliadine	18	%
Amidon	29,5	%
Lard	30	%
Sucre	15	%
Agar	5	%

auquel ils ajoutaient des principes minéraux sous la forme d'un mélange salin ou de « *lait déprotéiné* ». Ce dernier, renferme d'ailleurs à lui seul 0,13 % de lysine environ, ce lait désalbuminé ou « *protein-free milk* » contient, en plus, du sucre de lait, des sels et des vitamines.

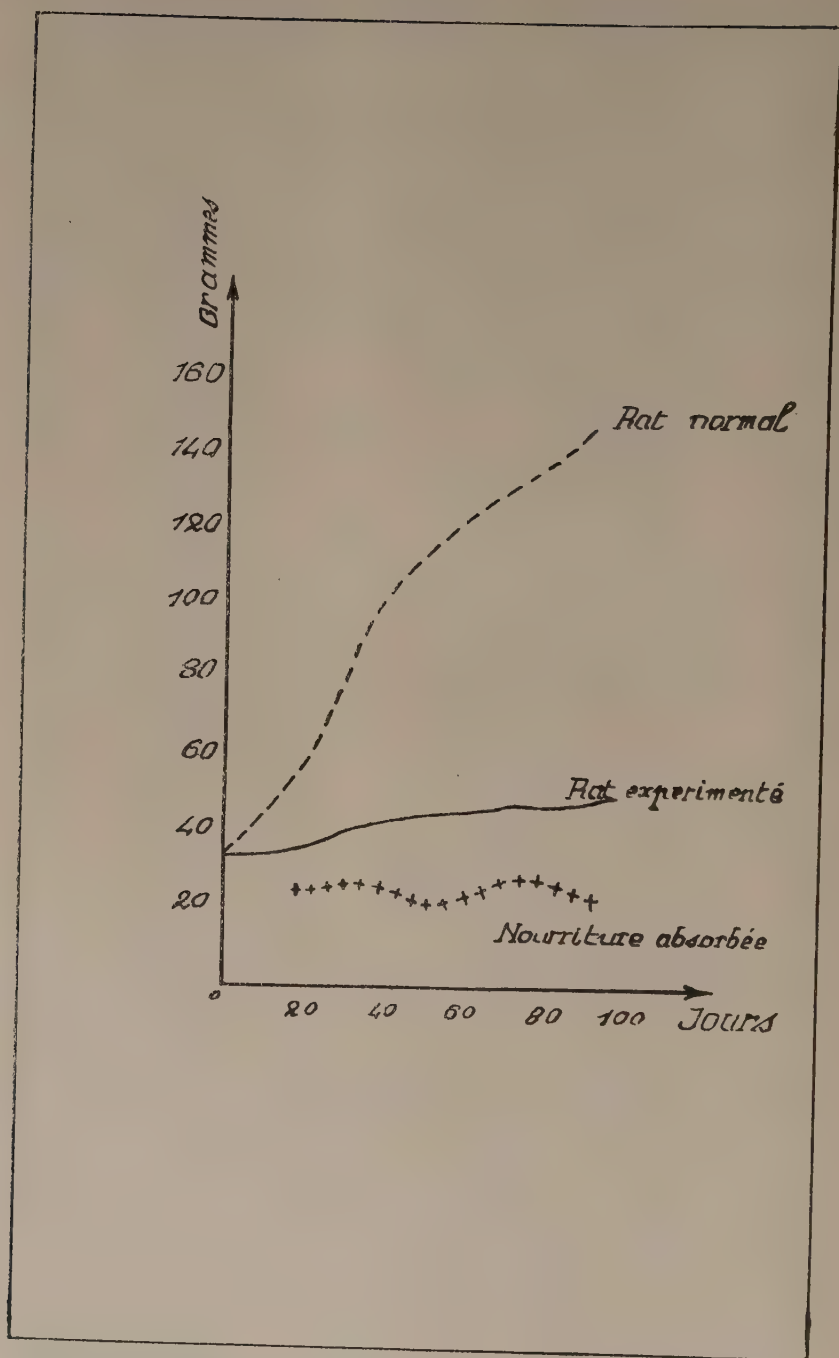
Les résultats obtenus sont remarquables, la croissance des Rats en expérience s'arrête brusquement, il peut y avoir encore une augmentation de poids très minime, mais la différence est énorme quand on les compare aux animaux témoins, l'arrêt de croissance peut durer plusieurs mois.

Voici d'ailleurs des courbes d'OSBORNE et MENDEL qui démontrent mieux que toute explication les résultats de l'expérience. (graphiques n° 2 et n° 3).

L'arrêt de croissance est bien dû à la déficience en lysine, OSBORNE et MENDEL en fournissent la preuve en ajoutant de la lysine au régime, ils ajoutent pour 100 gr. du régime: 0 gr. 54 de « *pure cristallised dichloride lysine* », soit 3 % de la protéique. Ils ont soin d'adjoindre assez de bicarbonate de soude pour neutraliser l'acide chlorhydrique combiné à la lysine. Dès que le bichlorhydrate de lysine est ajouté au régime précédent, dans les proportions indiquées, la croissance



Graphique N° 2. — Courbes de croissance normale de Rats mâles et femelles, d'après DONALDSON et d'après OSBORNE et MENDEL.



Graphique N° 3. — Courbes de poids d'un Rat normal et d'un Rat soumis au régime à la gliadine, d'après OSBORNE et MENDEL.

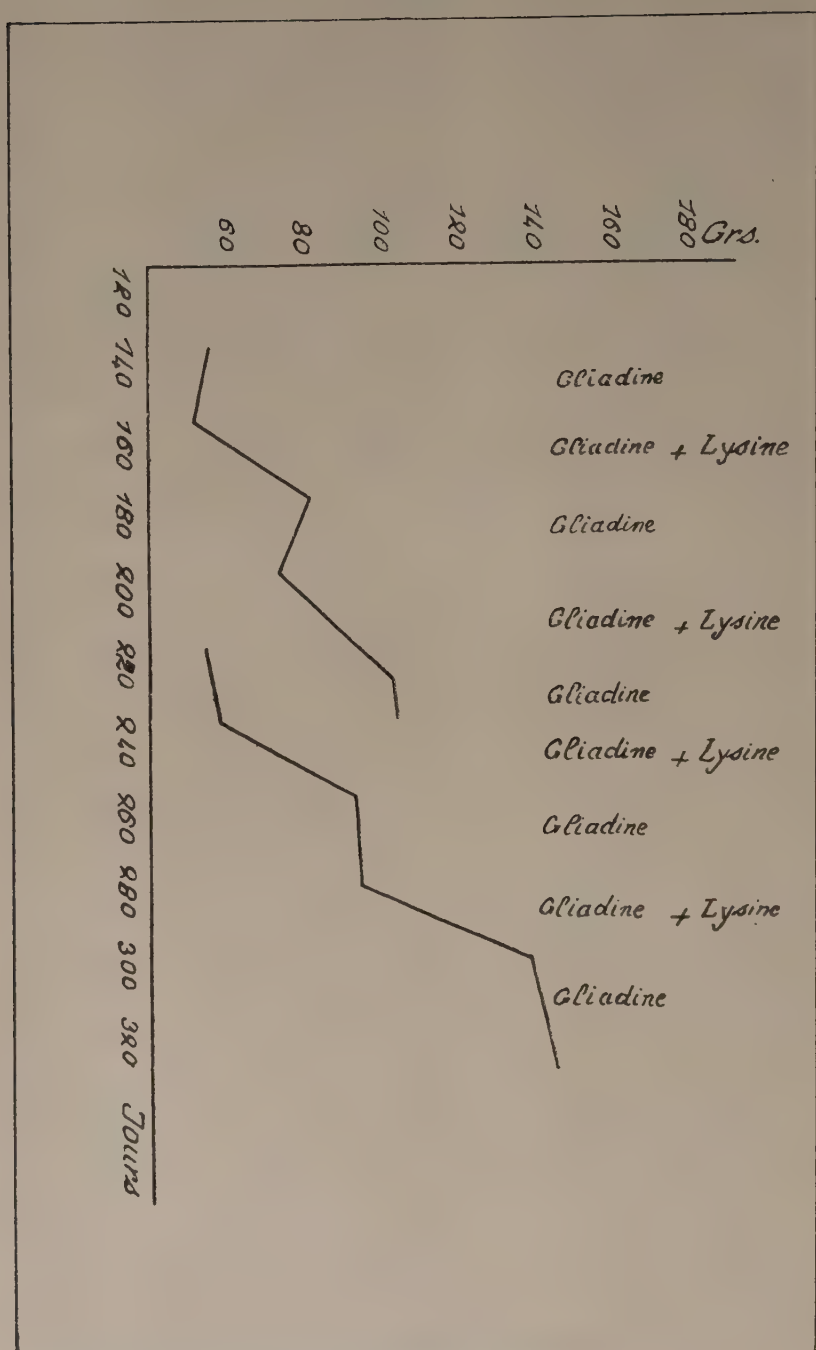
reprend rapidement. Nous donnons une nouvelle courbe d'OSBORNE et MENDEL, qui illustre parfaitement le phénomène. (graphique n° 4).

La lysine a donc une influence remarquable sur la croissance, il en faut une certaine proportion pour assurer l'augmentation normale du poids du corps chez les jeunes Rats. Le régime d'OSBORNE et MENDEL et en particulier leur gliadine n'en renferme pas assez. Par contre, cette gliadine renferme assez de tryptophane, le poids du corps se maintient en effet, il n'y a pas d'amaigrissement notable.

Les auteurs américains ont confirmé en 1916 leurs résultats chez les Oiseaux; les Poulets soumis à la carence de lysine ont, eux aussi, une croissance arrêtée. Signalons que C. CHAMPY et GLEY ont étendu ces expériences aux Batraciens. Les têtards nourris avec un mélange d'acides aminés sans lysine arrivent à faire leur métamorphose, mais les Grenouilles qui en proviennent sont toutes de taille minime. (Cité d'après Ch. RICHET fils).

Nous pouvons profiter de ces données pour élaborer un régime dont le seul constituant protidique sera notre gliadine, elle montrera sans doute les mêmes propriétés que celle d'OSBORNE et MENDEL, étant donnée sa constitution.

Le régime que nous devons préparer doit obéir à deux conditions; il doit d'une part, *être déficient en lysine*. Nous n'apportons comme protéique que la gliadine dont nous connaissons la carence en cet amino-acide de croissance, mais nous devons prendre des précautions pour ne pas introduire de lysine avec les autres constituants du régime; d'autre part, le régime choisi doit *être complet* par ailleurs, de façon à ce que les troubles éventuels qui pourraient apparaître chez les animaux expérimentés, ne ressortissent qu'à la carence en lysine. Nous devons en particulier tenir compte des recherches antérieures ayant montré l'influence de l'alimentation sur le développement du cancer.



Graphique N° 4. — Evolution pondérale des Rats en fonction des régimes (gliadine et gliadine avec lysine), d'après OSBORNE et MENDEL.

On sait parfaitement à l'heure actuelle, que les animaux qui reçoivent des greffons tumoraux font d'autant plus facilement du cancer qu'ils sont mieux nourris (HAALAND, 1907). MORESCHI a montré en 1909, que les tumeurs implantées chez les Rats sous-alimentés se développent difficilement; de nombreux auteurs ont confirmé l'observation première de MORESCHI; la fréquence des greffes positives des tumeurs et leur volume varient avec la qualité de la nourriture et avec sa quantité.

ROBERTSON et BENNETT, ayant constaté que les composés cholestériques sont particulièrement abondants dans la graisse des cancéreux, ont nourri des Rats avec du lait pauvre en cholestérol et ont remarqué que les tumeurs implantées chez ces animaux « reprennent » moins bien.

Les vitamines paraissent avoir également une action; elle a été envisagée par RHODA ERDMANN et par F. LUDWIG qui, en 1926, soumet des Rats à un régime dépourvu de vitamines pendant 50 à 60 jours; il leur greffe ensuite un sarcome et continue à leur donner le même régime pendant un certain temps; quand ils dépérissent, il leur offre un régime normal; l'auteur enregistre les résultats suivants: les témoins nourris normalement meurent de sarcome dans 100 % des cas, 60 jours au plus tard après l'implantation; chez les expérimentés, on constate que 35 % ne font pas de sarcome; ceux chez lesquels le greffon prolifère, vivent beaucoup plus longtemps que les témoins, ils peuvent en effet survivre pendant plus de 100 jours.

Nous voyons donc que les vitamines ont une action nettement favorisante; il semblerait, d'après des données récentes, que les vitamines B sont surtout nécessaires à la croissance néoplasique. On trouvera dans le travail de VOGT (1932), des renseignements intéressants sur le rapport entre le pouvoir de croissance des tumeurs et leur teneur en vitamine A. Récemment, A. THOMAS (1932) s'est demandé si le carotène,

que l'on considère maintenant comme une provitamine A pouvait favoriser la formation des cancers expérimentaux; il a mélangé le carotène à des broyats embryonnaires de Poulet et a injecté le liquide à des Coqs pour savoir s'il n'y aurait pas transformation des embryomes en sarcomes; il a constaté que, loin de favoriser la croissance des embryomes et leur transformation en sarcomes, le carotène semble provoquer leur calcification.

En tenant compte de toutes ces observations, nous avons préparé le régime suivant:

Gliadine	18	%
Amidon soluble	46,5	%
Graisse de beurre	18	%
Saindoux	12	%
Mélange salin	4	%
Vitamines (voir plus loin).		

Nous avons choisi comme hydrate de carbone, l'amidon soluble de POULENC, car, nous avons pensé qu'il contiendrait peut-être moins d'impuretés azotées que l'amidon ordinaire. On aurait pu prendre soit la dextrine, soit l'amidon de riz des blanchisseuses, qui sont moins onéreux, mais comme il s'agissait d'expériences sur des petits animaux, nous avons préféré l'amidon soluble.

La graisse de beurre a été préparée de la façon suivante: on fait fondre du beurre (au bain-marie) juste à la température de fusion et très doucement, puis on le laisse refroidir lentement dans un récipient conique, les matières protéiques se rassemblent vers le bas. On reprend la partie jaune supérieure qui se sépare facilement de la partie protéique blanche, on la fait fondre à nouveau doucement; le liquide est versé dans des tubes et centrifugé énergiquement, la couche grasse surnageante est dissoute dans l'éther, on la lave plusieurs fois à l'eau ordinaire dans un entonnoir à décantation;

la solution éthérée est ensuite séparée et évaporée en prenant les précautions d'usage.

Les principes minéraux sont fournis sous la forme de mélange salin dont la composition nous a été donnée par M. le Professeur TERROINE :

Chlorure de Sodium	11,6
Chlorure de Potassium	10,4
Phosphate bipotassique	23,3
Citrate de Chaux	35,6
Citrate de magnésie	9,3
Bicarbonate de soude	3,0
Sulfate de potasse	1,7
Citrate de fer	5,1

Nous avons, bien entendu, ajouté des vitamines à notre régime; nous avons insisté plus haut sur la nécessité d'éviter la carence en vitamines dans nos recherches.

Nous avons utilisé les substances suivantes dans ce but, en prenant soit le premier mélange, soit le second :

Premier mélange:

Levure sèche	3 gr.
Embryonine Barré	0,25
Huile de foie de morue	2 gr.
(contenant un extrait éthéré de laitue)	
Jus de citron	0,50

Deuxième mélange:

Germe de blé frais	0,25
Farine de malt	0,25
Huile de foie de morue	2 gr.
(contenant un extrait éthéré de laiture)	
Jus de citron	0,50

La levure est une source très riche de vitamines B, nous avons préféré la levure sèche, car R. WALKER et NELSON viennent d'indiquer tout récemment (1933) que la levure sèche était plus fournie en vitamines B que la fraîche.

L'Embryonine Barré est une spécialité pharmaceutique uniquement constituée par des germes de blé stabilisés; elle renferme, d'après les fabricants, les vitamines A, B et E.

Les germes de blé frais provenaient du Moulin Narbonne; ils apportent les facteurs A et B. La farine de malt apporte le facteur B, le jus de citron les facteurs A et C; les Rats sont insensibles à la carence en facteur C, nous l'avons cependant employé pour équilibrer notre régime en vitamines. L'huile de foie de morue renferme le facteur D; nous avons ajouté à cette huile un extrait éthéré de feuilles de laitue (1), préparé par nous-mêmes, pour introduire dans l'alimentation expérimentale la vitamine E d'EVANS; on sait l'importance jouée par ce facteur dans le développement et la physiologie des organes de reproduction (2). La graisse de beurre apporte aussi du facteur A.

Pour préparer la pâtée des animaux, on commence par mélanger intimement les différents constituants pulvérulents dans un cristalliseur, on peut même, pour obtenir des mélanges parfaitement homogènes, faire passer plusieurs fois

(1) Les feuilles de laitue fraîches sont passées au broyeur LATAPIE; le liquide et la partie solide broyée sont recueillis dans l'éther et agités, maintenus au contact de l'éther plusieurs heures. On filtre, on décante, la solution éthérée est évaporée à basse température, le résidu est repris par l'huile de foie de morue.

(2) Facteur A : croissance générale, antixérophtalmique.

» B : antibériberique, antinévritique, utilisation des sucres.

» C : antiscorbutique.

» D : antirachitique.

» E : organes reproducteurs.

Nous avons utilisé parfois l'huile de chènevis qui apporte le facteur E.

le produit en poudre dans un moulin très fin, un moulin à poivre par exemple. On ajoute ensuite les substances grasses et liquides, on malaxe l'ensemble avec les mains jusqu'au moment où la pâte obtenue est bien homogène. On prend soin de ne pas préparer trop de pâtée à la fois, les animaux l'ingèrent difficilement quand elle n'est plus très fraîche.

Cette pâtée, à laquelle on ajoute de l'eau et du papier comme aliment encombrant, est donnée à discrétion à de jeunes Rats blancs dont la croissance antérieure se présentait comme normale.

ACTION DU REGIME EXPERIMENTAL SUR LA CROISSANCE DES RATS

LA CARENCE DE LYSINE

On choisit des Rats blancs en croissance dont le poids est compris environ entre 60 et 80 gr. et on les soumet au régime dont nous avons indiqué la constitution; il est préférable de laisser les animaux à la diète hydrique pendant 24 heures avant de leur donner l'alimentation expérimentale, ils sont alors affamés et s'habituent plus vite à la pâtée qu'on leur offre.

Si cette précaution n'est pas prise, les animaux à qui l'on donne d'emblée le régime, le refusent pendant les premiers jours et leur poids baisse au début de l'expérience.

De toute façon, la majorité des animaux s'habitue à cette alimentation et nous avons constaté en les pesant régulièrement que la fixité du poids s'établit rapidement; tandis que le poids des témoins de la même portée, recevant la nourriture ordinaire de l'élevage (pain mouillé, salade, carottes, orge, et du lait de temps à autre) s'élève régulièrement, celui

des expérimentés oscille le plus souvent très faiblement de part et d'autre d'une horizontale.

Ces oscillations sont d'ailleurs variables d'un animal à l'autre, certains ont tendance à augmenter légèrement de poids, d'autres au contraire à maigrir, les courbes d'OSBORNE et MENDEL accusent également ces variations. Nous avons remarqué en outre, qu'en général l'expérience est plus régulière chez les mâles que chez les femelles.

Quoiqu'il en soit, nous avons indubitablement obtenu des résultats absolument superposables à ceux des biochimistes américains. Certaines expériences, ayant duré plusieurs mois, ont permis de constater que beaucoup d'animaux s'accommodent parfaitement du régime donné, leur courbe de poids révèle l'arrêt de croissance si caractéristique découvert par OSBORNE et MENDEL.

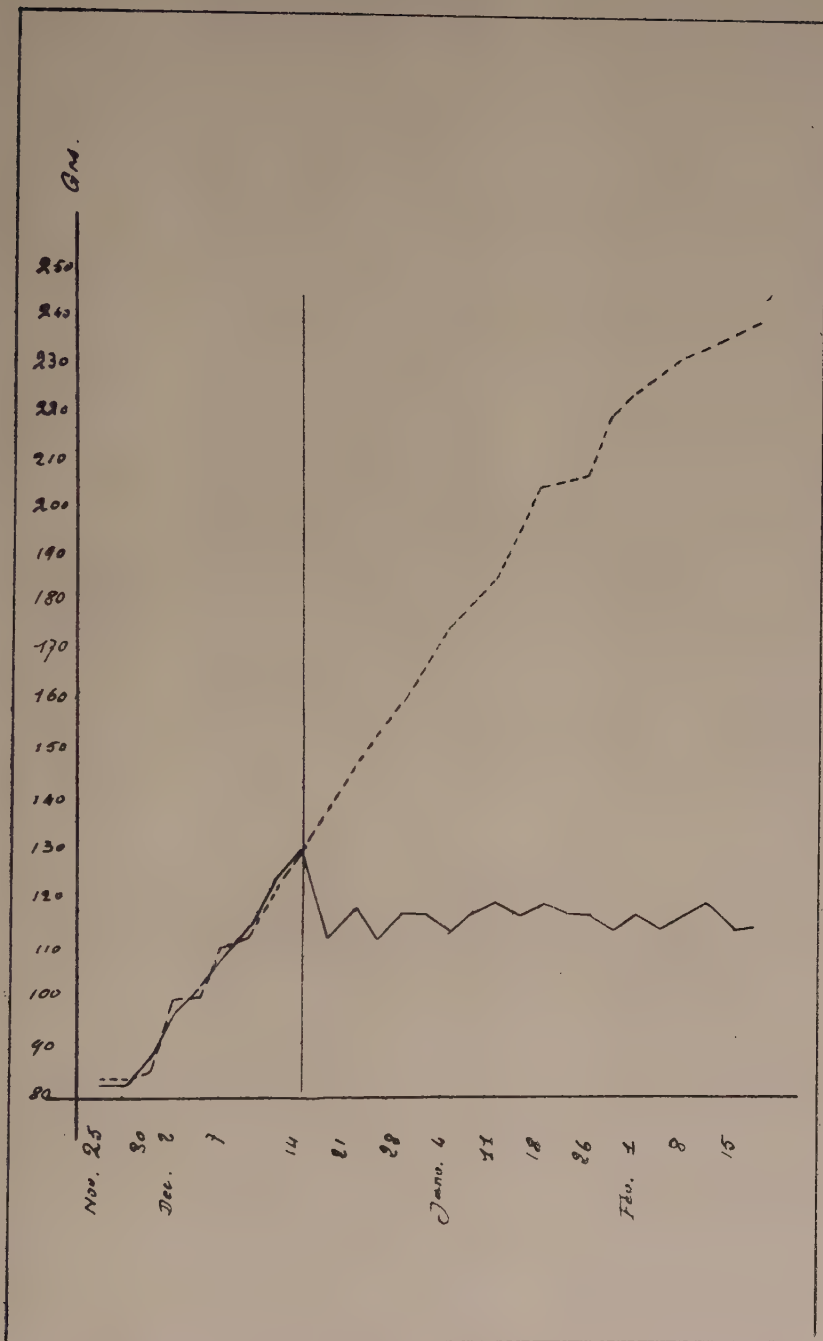
Ces recherches préliminaires, qui furent en réalité fort longues, nous autorisaient donc à aller plus avant dans le problème que nous nous étions posé.

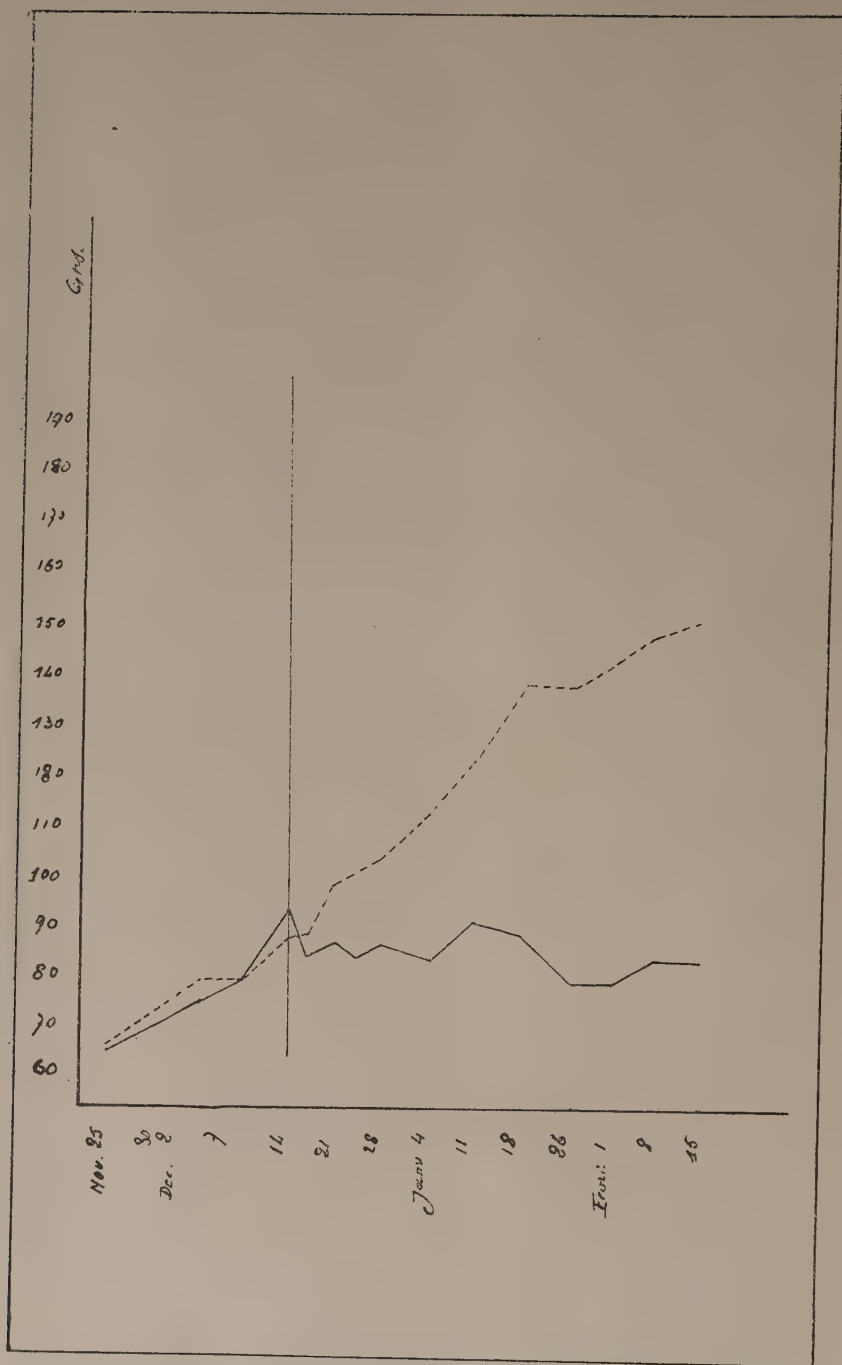
Nous donnons quelques courbes, choisies parmi beaucoup d'autres, montrant chez des mâles et chez des femelles, l'influence manifeste de l'alimentation présentant une déficience en lysine. Sur chaque tracé, nous donnons la courbe de poids d'un animal en expérience et celle du témoin de la même portée (1). (graphiques n° 5, n° 6, n° 7).

Nous nous sommes demandé alors si l'arrêt de croissance était bien dû à l'insuffisance qualitative de la gliadine, nous avons fait pour cela, deux sortes d'expériences.

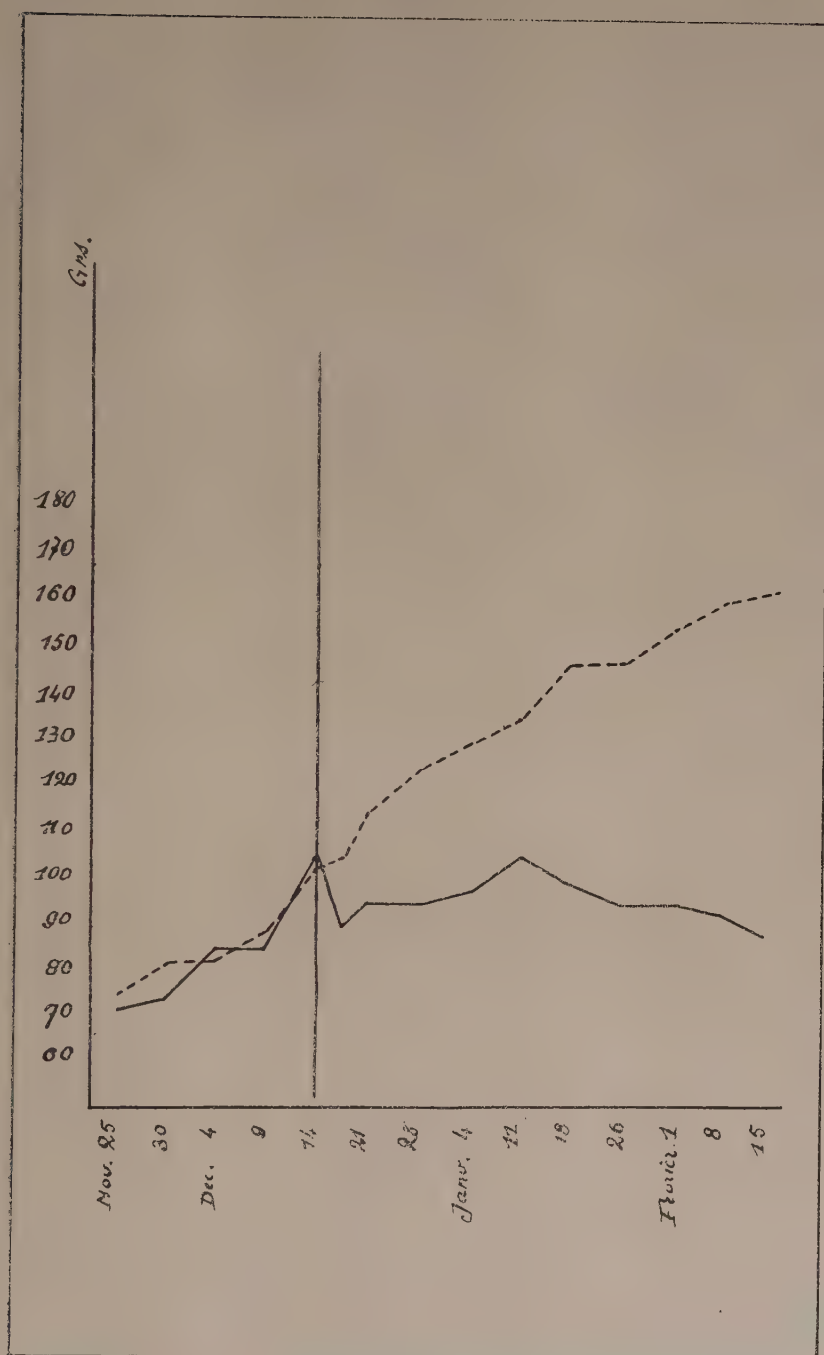
Dans une première série, nous avons ajouté à la gliadine, l'acide aminé dont elle est déficiente sous la forme de bi-chlorhydrate de lysine droite cristallisé, préparé par les Etablissements HOFFMANN-LA ROCHE.

(1) Certains de ces graphiques proviennent des expériences de R. COURRIER et R. RAYNAUD (voir plus loin).





Graphique N° 6. — En traits pointillés: poids d'un Rat femelle à l'alimentation normale. — En trait plein: poids d'une femelle de la même portée, soumise au régime à la gliadine, à partir du 14 décembre.



Graphique N° 7. — En traits pointillés: poids d'un Rat femelle à l'alimentation normale. — En trait plein: poids d'une femelle de la même portée, soumise au régime à la gliadine à partir du 14 décembre.

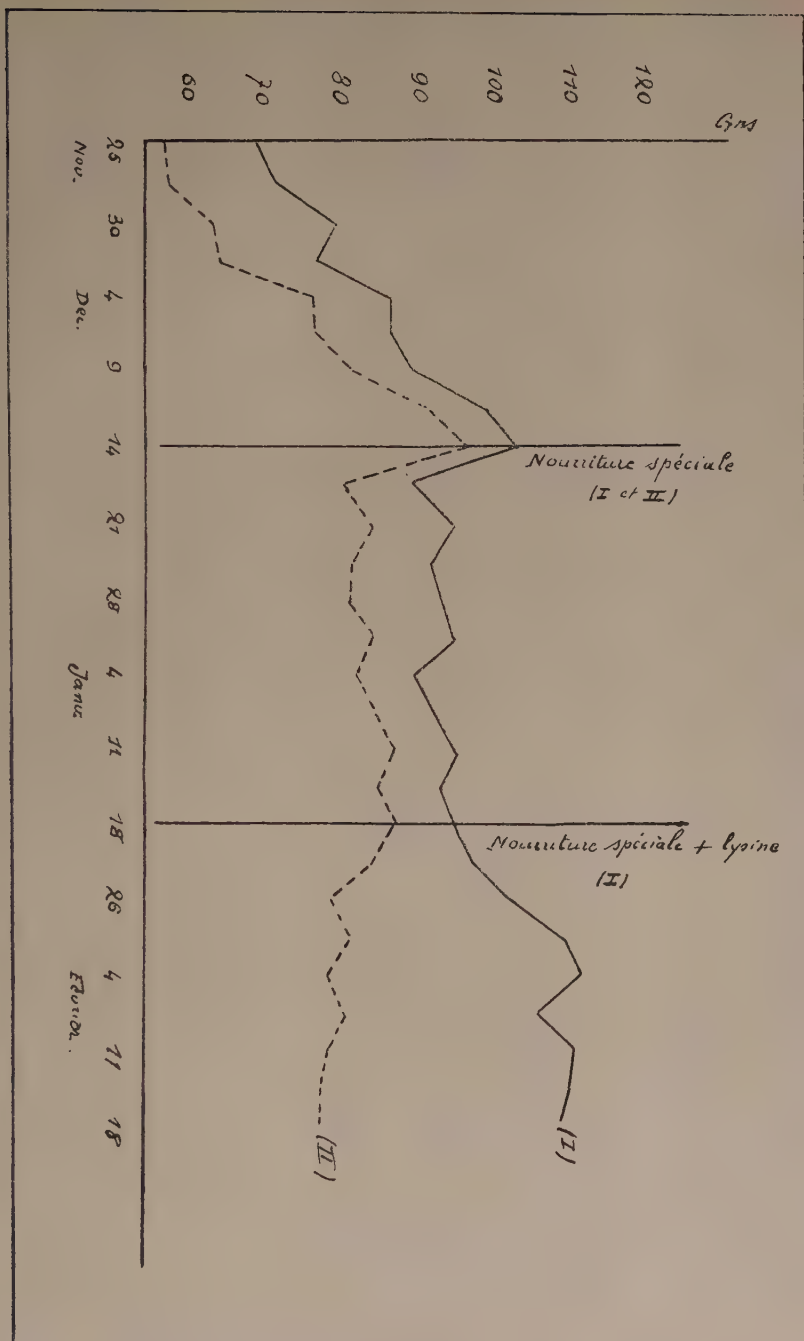
Dans une seconde série, nous avons adopté le régime expérimental dans lequel la gliadine a été simplement remplacée par une protéique efficace : la lactalbumine. M. ETTORI, a eu la complaisance de nous préparer cette dernière, dans le laboratoire de M. le Professeur MAILLARD.

On sait que la lactalbumine est exceptionnellement riche en lysine; OSBORNE, Van SLYKE, LEAVENWORTH et VINOGRAD (1915) ont trouvé 9 gr. 16 à 10 gr. de l'acide aminé de croissance dans 100 gr. de la protéine du lait. OSBORNE et MENDEL ont signalé en 1916 que la lactalbumine avait une valeur biologique plus considérable que l'édénine du chanvre ou que la caséine; pour assurer une croissance égale chez un animal, il faut lui donner beaucoup moins de lactalbumine que de caséine; cette dernière renferme environ 7 % de lysine d'après OSBORNE et MENDEL.

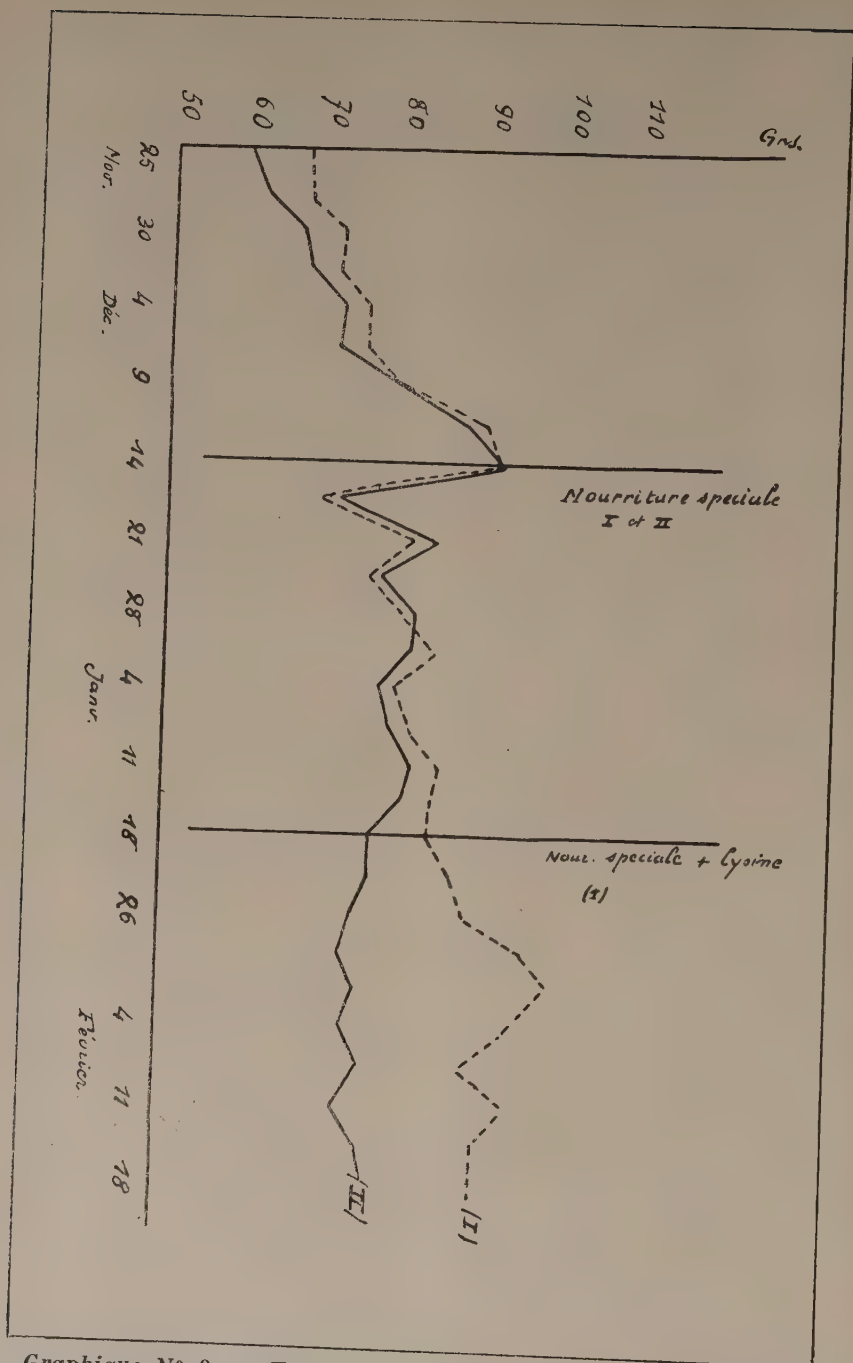
La lactalbumine que nous avons utilisée, a été préparée de la façon suivante : du lait de vache frais est centrifugé pour séparer les graisses ; on y ajoute ensuite de l'acide chlorhydrique dilué, on précipite ainsi la caséine, l'addition d'acide est faite jusqu'au moment où la précipitation est complète. On filtre d'abord sur un linge à fromage, puis sur papier; on obtient un liquide filtré, clair, légèrement opalescent. On le fait bouillir rapidement, la lactalbumine se coagule; on filtre et lave avec de l'eau bouillante pour enlever les chlorures et le lactose. Le coagulum est traité plusieurs fois par l'alcool fort qui enlève quelques substances solubles, puis il est séché à l'air. C'est la technique suivie par OSBORNE et ses collaborateurs dans leur mémoire de 1915; elle donne un bien faible rendement: M. ETTORI nous a donné 90 gr. de substance en partant de 30 litres de lait écrémé.

Nous donnons ci-dessous quelques graphiques qui rendent compte mieux que toute description, des résultats obtenus. (graphiques n° 8, n° 9, n° 10).

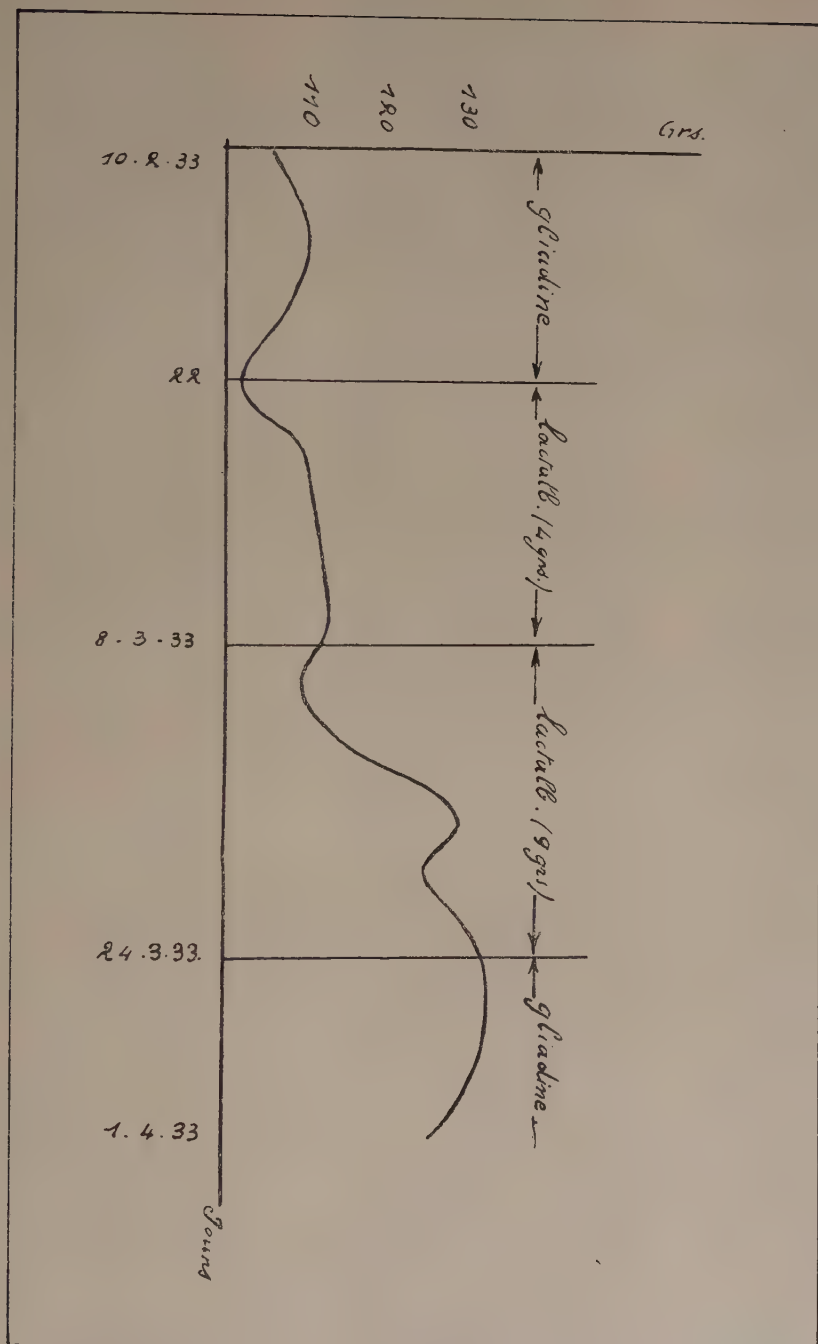
Dans le cas où l'on ajoute du bichlorhydrate de lysine



Graphique N° 8. — En traits pointillés: évolution pondérale d'un Rat femelle, recevant une alimentation normale, du 25 novembre au 14 décembre et le régime à la gliadine à partir du 14 décembre. — En trait plein: évolution pondérale d'un Rat femelle, recevant une alimentation normale, du 25 novembre au 14 décembre, le régime à la gliadine du 14 décembre au 18 janvier et le régime à la gliadine aditionnée de lysine, à partir du 18 janvier.



Graphique N° 9. — En traits pointillés: évolution pondérale d'un Rat femelle recevant une alimentation normale du 25 novembre au 14 décembre, le régime à la gliadine du 14 décembre au 18 janvier et le régime à la gliadine additionnée de lysine à partir du 18 janvier. — En trait plein: évolution pondérale d'un Rat femelle, recevant une alimentation normale du 25 novembre au 14 décembre et le régime à la gliadine à partir du 14 décembre.



Graphique N° 10. — Courbe de poids d'un Rat recevant avec son régime :

- 1°) 18 grs. de gliadine.
- 2°) 14 grs. de gliadine, 4 grs. de lactalbumine.
- 3°) 9 grs de gliadine, 9 grs. de lactalbumine.
- 4°) 18 grs. de gliadine.

droite au régime expérimental, on a opéré de la façon suivante : chaque expérience porte sur deux Rats qui, pendant quelques semaines, ont reçu une nourriture normale, leur croissance s'est alors effectuée régulièrement. Puis, on les a mis en même temps, l'un et l'autre au régime à la gliadine, après la chute de poids des premiers jours, que nous avons expliquée plus haut, on constate que la croissance s'arrête et que le poids se stabilise. Quand cette stabilité pondérale est parfaitement acquise, après 4 semaines et même davantage de nourriture à la gliadine, l'un des deux Rats continue à absorber le même régime expérimental, tandis que l'autre reçoit en plus le sel de lysine. Celui-ci fut ajouté à la pâtée à des doses variables, nous avons au début, comme OSBORNE et MENDEL, ajouté 0 gr. 54 de lysine pour 100 gr. de pâtée, ce qui représente 3 % de lysine par rapport à la gliadine qui entre pour 18 gr. dans le régime. Puis, nous avons augmenté la dose. Les courbes permettent de constater que l'addition de l'acide-amino de croissance entraîne des modifications indubitables dans l'évolution pondérale des animaux. Tandis que ceux qui n'ont que la gliadine offrent une courbe sans modification, se tenant approximativement en direction horizontale, les animaux qui sont soumis à la lysine montrent un décalage net de leur poids, celui-ci augmente, se détache de l'horizontale; mais après une montée de 15 à 20 gr. en quelques jours qui révèle une action évidente, la courbe oscille et ne monte plus; il est fort possible que cette tendance à la stabilisation soit due au fait que nous avons omis de modifier notre mélange salin dans le cas de l'addition de lysine; il eût fallu sans doute remédier à la perturbation causée par le bichlorhydrate en ajoutant un peu de bicarbonate de soude, comme OSBORNE et MENDEL l'avaient fait; nous avouons que nous nous en sommes rendu compte trop tard.

Quoiqu'il en soit, la déficience en lysine est évidente dans

nos expériences avec la gliadine, l'arrêt de croissance obtenu semble bien dû à cette carence puisque l'évolution de la courbe pondérale se modifie dès que l'acide aminé est ajouté.

Dans le cas, où l'on remplace la gliadine (1), protéique déficiente, par la lactalbumine, protéique efficace, on obtient aussi une ascension de la courbe préalablement stabilisée ainsi qu'en témoigne le tracé. Il faut remarquer ici, que la croissance que l'on déclanche, même avec la lactalbumine est moins intense que la croissance des Rats normalement nourris. La pâtée expérimentale, quoique complète au point de vue des besoins nutritifs, leur plaît moins qu'un régime ordinaire.

Nous n'insisterons pas davantage, l'arrêt de croissance que nous avons obtenu chez nos animaux paraît bien dû à l'insuffisance qualitative de la gliadine, nous avons ainsi en mains les matériaux nous permettant de réaliser à notre gré, une carence de lysine et d'entraver par le fait même, les processus normaux de croissance d'un organisme.

Nous avons ainsi répondu à la première question que nous nous étions posée, nous avons à notre disposition un régime alimentaire qui arrête le développement somatique d'un animal par l'absence d'un acide aminé de croissance, en fait, la lysine.

Nous devons envisager maintenant la seconde question : les expériences devant consister à faire naître un processus cancéreux chez les Rats à croissance arrêtée et à étudier l'évolution de ce processus néoplasique; nous devons maintenant, choisir la souche tumorale à employer.

(1) Dans une première expérience, nous avons donné comme substance protéique, 14 gr. de gliadine et 4 gr. de lactalbumine. Dans une seconde, 9 gr. de gliadine et 9 gr. de lactalbumine. La proportion de lactalbumine que nous introduisons est très large puisqu'en utilisant la lactalbumine seule, il suffit d'en avoir 6 % à 9 % dans le régime pour avoir une croissance normale.

LE SARCOME DE JENSEN

Il est indispensable que la souche cancéreuse à utiliser offre certaines garanties pour permettre des expériences à l'abri des critiques. Ce cancer doit pouvoir apparaître sur un animal choisi à un moment donné; il est nécessaire qu'il évolue d'une façon absolument *régulière* dans les conditions normales; il faut que le point de départ de l'évolution néoplasique soit le même chez l'animal témoin et chez l'animal à croissance empêchée; nous devons être absolument maîtres de l'éclosion du processus tumoral.

Pour ces multiples raisons, il ne pouvait être question de déclancher un cancer expérimental comme celui du goudron; il ne répond en effet, en aucune façon, aux conditions exigées; seule, une tumeur inoculable par greffe, pouvait convenir; dans ce cas, le point de départ, c'est le moment de la greffe; les dimensions du greffon transplanté dépendent de l'expérimentateur; la greffe étant sous-cutanée, l'évolution du processus peut être rigoureusement suivie.

Nous avons choisi une souche de sarcome de JENSEN, que l'on peut aisément repiquer d'animal à animal. Cette souche, qui provient, nous l'avons dit, de l'Institut du Cancer de Villejuif, est particulièrement vivace; elle donne des résultats constants dans notre élevage de Rats blancs, cette constance des reprises et de l'évolution du greffon est peut-être dûe, en partie, au fait que tous nos Rats proviennent d'un même couple d'ancêtres qui fut introduit au laboratoire il y a sept ans.

Avant d'entreprendre l'exposé de nos recherches sur le comportement du greffon sarcomateux chez l'animal carencé, nous pensons utile de donner brièvement quelques indications d'ordre général sur le Sarcome de JENSEN et quelques ren-

Photographie N° 1. — Rat soumis à un régime normal, porteur d'un sarcome de JENSEN. Le greffon sarcomateux (0 gr. 1 à 0 gr. 2) a été implanté le 7 octobre 1932. La photographie a été prise le 12 novembre 1932. (Age de la tumeur : 36 jours).

Photographie N° 2. — Aspect du sarcome de JENSEN chez un Rat soumis au régime expérimental (gliadine). Le greffon tumoral (0 gr. 1 à 0 gr. 2) a été implanté le 7 février 1933. La photographie a été prise le 3 mars 1933. (Age de la tumeur : 24 jours). L'animal était nourri au régime à la gliadine depuis 11 jours au moment de la greffe.

Photographie N° 3. — Sarcome de JENSEN chez un Rat soumis au régime expérimental (gliadine). La greffe fut faite le 31 décembre 1932, la photographie prise le 9 février 1933. (Age de la tumeur : 38 jours). L'animal était nourri à la gliadine depuis 19 jours au moment de l'implantation.

Photographie N° 4. — Evolution du sarcome de JENSEN chez un Rat normalement nourri. Le greffon (0 gr. 1 à 0 gr. 2) a été implanté le 7 février 1933. La photographie fut prise le 3 mars 1933. (Age de la tumeur : 24 jours). (Comparer à la photographie N° 2).



seignements pratiques sur la technique à suivre pour employer ce cancer comme moyen de recherches.

Il fut isolé en 1902 par JENSEN (de Copenhague), dans des circonstances particulières. C'est fortuitement, en effet, que cet auteur découvrit, parmi les Rats qu'il entretenait, la tumeur que portait l'un d'eux. Il eut l'idée de la prélever et d'en inoculer des fragments à 100 animaux du même élevage. Le pourcentage des reprises positives ne fut pas, à ce moment, du même ordre que celui que l'on obtient actuellement. Environ 6 % seulement des animaux inoculés développèrent des nodules cancéreux. Les autres Rats résorbèrent lentement leur implant. Les animaux « positifs » moururent du développement ultérieur de leur tumeur et des métastases nombreuses pour lesquelles, la souche qui venait d'être isolée, révéla une aptitude particulière.

JENSEN continua les inoculations de sarcome. Il obtint ainsi, avec un succès toujours croissant, des greffes positives. Les tumeurs des générations successives se répandirent dans les laboratoires de recherches. On multiplia les greffes. La tumeur a été entretenue par d'innombrables passages. Elle est parvenue jusqu'à nos jours. Aujourd'hui, après plus de trente ans d'inoculations malgré quelques modifications de son caractère évolutif (inaptitude actuelle aux métastases), elle a gardé intacte sa très grande malignité; les résultats constants et homogènes que l'on obtient par son emploi, confèrent à cette souche tumorale une valeur particulière. Elle est à placer au premier rang dans le groupe des cancers transmissibles.

La greffe consiste à extirper la tumeur sous-cutanée d'un animal cancéreux, à la fragmenter et à planter une des parcelles ainsi obtenues sous la peau d'un autre Rat.

Les conditions favorables à la bonne réussite d'une greffe

peuvent être classées sous deux chefs, suivant qu'elles relèvent de l'animal porte-greffe, ou de la technique employée.

L'animal récepteur. — Le sarcome de JENSEN a une spécificité zoologique absolue; toute tentative d'inoculation à d'autres espèces est vouée à l'insuccès. Cette spécificité zoologique, qu'il partage avec tous les tissus cancéreux, explique l'échec constant des hétéro-greffes. Le pourcentage des reprises de l'implant, qui est de 100 % environ chez le Rat blanc, n'est plus que de 30 % chez les animaux hybrides (Rats gris). La greffe est infailliblement résorbée par la Souris (nous l'avons vérifié nous-mêmes) et par tous les autres animaux. L'animal qu'il faut donc nécessairement employer est le Rat blanc.

Quelles sont les conditions qui favorisent le développement du cancer chez le Rat blanc inoculé ? L'expérience montre que le meilleur terrain est fourni par un Rat vigoureux, dont la santé n'est pas altérée par des maladies antérieures. Le mauvais état général n'est pas propice à l'éclosion du cancer greffé. Il en est de même de certains états physiologiques, comme la grossesse, la lactation par exemple. C'est pourquoi, pour éliminer ces facteurs, il est préférable de choisir des Rats mâles, bien que les deux sexes soient également favorables à la reprise du greffon. L'âge de l'animal greffé a son importance. On a grand intérêt à choisir des animaux *jeunes*; leur état de propreté, la nourriture qu'on leur offre sont à considérer en tant que facteurs de santé générale.

En résumé, la greffe faite à un animal a d'autant plus de chances de réussir, qu'elle est pratiquée sur un mâle jeune (de 90 à 140 gr.) dont les conditions de *santé, d'hygiène et d'alimentation sont satisfaisantes.*

La nécessité d'employer de jeunes animaux pour assurer le succès des greffes, s'accorde particulièrement avec les exigences que nous imposent nos expériences d'alimentation.

Dans ces dernières, en effet, c'est *l'arrêt de croissance* qui est le test qui permet de juger de l'efficacité des régimes alimentaires synthétiques. Le choix de jeunes Rats est ainsi doublement justifié.

Le moment le plus propice au renouvellement des greffes est mal déterminé. Son importance est secondaire. Mais il semble qu'une tumeur âgée de 15 à 20 jours en moyenne, soit particulièrement apte à fournir des greffons. Il n'est pas avantageux d'attendre un développement trop considérable du sarcome pour renouveler les implantations. Un cancer volumineux, gros comme un œuf de Poule (de 70 à 90 grs), tel que le montre la fig. 1 (36^e jour d'évolution), contracte des adhérences à la peau; l'extirpation en est difficile. Les tumeurs trop jeunes (moins de 10 jours) ont un parenchyme trop réduit, il a le volume d'un haricot. Le nombre des greffes est trop limité et l'on n'est pas assuré de l'évolution future d'un greffon aussi jeune. Nous avons pratiqué, avec succès, des greffes à l'aide d'implants prélevés sur des tumeurs âgées de 27 jours au maximum, de 12 jours au minimum.

Technique de la greffe. — Nous avons effectué la transplantation du sarcome de JENSEN, suivant la technique classique connue sous le nom de méthode d'inoculation au «fragment» ou au «trocart». Nous la résumerons ainsi:

L'animal porte-greffe est tué par un anesthésique. On coupe les poils de la région tumorale, qui est lavée largement à l'alcool iodé et séchée. La peau est incisée sur toute la longueur de la tumeur, et réclinée. La tumeur parfaitement mobile sous la peau et sur le plan thoracique, arrondie du côté cutané, aplatie du côté costal, est libérée facilement, extraite en totalité, et placée dans une boîte de PETRI stérile et couverte.

Le Rat que l'on se propose de greffer, est fixé, dans la po-

sition ventrale, sur une planche d'expérience. La région d'inoculation est débarrassée de ses poils, passée à l'alcool iodé et séchée. On choisit la région dorsale, un peu au-dessus de l'épine iliaque postérieure gauche. On pratique en cet endroit, avec la pointe de ciseaux droits, une boutonnière de 5 mm.; un fragment de tumeur (longueur 8 mm.; largeur 2 à 3 mm.; poids 0 gr. 1 à 0 gr. 2) est placé dans une extrémité du trocart (1). Cette parcelle de sarcome, qui ne doit pas dépasser 1/2 cent. cube, est prélevée à la *périphérie* de la tumeur enlevée, en pleine zone d'accroissement. L'examen histologique, comme nous le verrons, justifie ce choix et en explique l'importance: les régions excentriques de la tumeur sont riches en cellules sarcomateuses jeunes; tandis que la sclérose est très abondante dans la partie centrale. On taille donc des greffons dans la région rose périphérique et l'on évite la partie centrale qui est blanchâtre, scléreuse, et souvent en nécrose.

Le trocart ainsi chargé, est inséré dans le tissu cellulaire lâche sous-cutané du Rat, à travers la boutonnière, jusque dans la région scapulaire gauche. A l'aide du mandrin, on pousse le greffon en ce point. L'incision cutanée est fermée par un point au catgut et une goutte de collodion. On vérifie soigneusement que le fragment tumoral ne reste pas dans le trocart, c'est une précaution qu'il n'est pas exagéré de conseiller, nous nous en sommes rendu compte.

Nous greffons ainsi des séries d'animaux avec la même tumeur, dans des conditions expérimentales identiques relatives au lieu d'inoculation, à la quantité de tumeur greffée, au poids des animaux et à leur alimentation.

Cette méthode d'inoculation n'est pas la seule préconisée. On utilise aussi la technique dite « de l'émulsion » ou « à

(1) Nous employons un trocart ordinaire, à ponction d'ascite, de 6 cm. de long. Le diamètre de la section intérieure ou du mandrin est de 3 mm. 5.

la seringue ». Elle consiste à broyer un petit fragment cancéreux dans un mortier, avec un peu de sérum physiologique. On injecte le mélange (1 cent. cube environ) sous la peau du Rat. Cette technique est particulièrement indiquée lorsque la tumeur à inoculer a une consistance molle. Nous avons préféré la méthode du trocart pour sa simplicité et sa précision. Elle permet de « mieux limiter le siège de l'inoculation et de mieux doser la tumeur greffée » (ROUSSY). La consistance particulièrement ferme de la tumeur de JENSEN du Rat, s'accommode bien de cette technique dont l'aseptie est facilement garantie.

Telles sont les principales conditions expérimentales qui concourent à assurer le développement ultérieur du fragment cancéreux.

Les résultats obtenus ainsi sont surprenants: la proportion des reprises positives atteint sensiblement 100 %, ainsi que nous l'avons déjà signalé. Exceptionnellement l'implant est résorbé.

En règle générale, le tissu tumoral récemment introduit chez l'animal porte-greffe, interrompt sa croissance pendant quelques jours du fait de son transfert chez un hôte nouveau. Il y a, au début de l'évolution de l'implant, un intervalle pendant lequel il est difficile, sinon impossible, d'affirmer le succès de la greffe. Vers le 6^e jour, en cas de greffe positive, la palpation fait sentir sous la peau de l'animal, un nodule du volume d'un petit grain de café. Le développement de la tumeur, à partir de ce moment, est particulièrement rapide. Le greffon atteint, vers le 20^e jour, les dimensions d'un œuf de Poule (5 cm. $\times$ 4 cm.). A la 5^e semaine d'évolution (1), il est comparable à une orange et pèse 70 à 90 gr. Il représente 700 à 900 fois son poids primitif. La

(1) Il s'agit d'une croissance *normale* de tumeur.

tumeur acquiert ainsi en six semaines un développement prodigieux (fig. 1). Elle surpasse les $\frac{2}{3}$ du poids du Rat. L'animal garde, jusqu'à un stade avancé, un état général apparemment satisfaisant, qui contraste curieusement avec les proportions considérables de la tumeur qu'il porte. Le sarcome commence à s'ulcérer, l'état général décline, l'animal maigrit. Sa courbe de poids, jusque-là ascendante, devient horizontale : l'accroissement pondéral de la tumeur (3 gr. par jour en moyenne) compense sensiblement l'amaigrissement somatique. Puis le poids diminue : dans les derniers jours de la vie, la tumeur régresse manifestement. La régression du cancer à la période terminale est amplement expliquée par l'épuisement complet de « l'organisme parasite » (CONTAMIN).

Telle est l'évolution actuelle d'une greffe de sarcome de JENSEN du Rat.

Au cours de trente années de transplantations, le caractère évolutif du cancer greffé s'est modifié. Ainsi, les reprises positives qui étaient de 6 à 20 % au début, le sont aujourd'hui dans la proportion de 100 % environ : tout se passe comme si, au cours des greffes successives, la virulence de la tumeur s'était exaltée. Il est possible également que le sarcome de JENSEN s'accoutume lentement aux conditions biologiques nouvelles que la greffe lui impose. Pour certains cancers de la Souris, NÈGRE (Thèse Médecine, Paris 1910) constate qu'une modification minime du régime salin alimentaire, abaisse manifestement le pourcentage des reprises positives. Mais ces dernières s'accroissent avec le nombre de greffes. Le cancer est ainsi susceptible de s'adapter. L'identité d'origine des animaux expérimentés a son importance et nous avons opéré sur des Rats de souche commune.

La recherche des métastases viscérales est toujours négative. Au début de la pratique des greffes, le sarcome essayait

mait largement dans tous les viscères et son développement local était réduit. Aujourd'hui, la tumeur est inapte aux métastases (1), mais son développement local est considérable. Il y a un « balancement » entre la phase locale du cancer (développement au point d'inoculation), et la phase générale (métastases). Cette constatation est générale : elle a été maintes fois vérifiée pour d'autres variétés de tumeur du Rat (carcinome par exemple) et chez d'autres animaux (Souris). Des théories discutées (Théorie athrépsique d'ERHLICH), tentent d'expliquer ce fait, nous y reviendrons à propos de l'immunité.

Telles sont les modifications évolutives que le Sarcome de JENSEN a subies au cours des transplantations successives ; elles n'ont nullement affecté le caractère malin de la souche primitive qui paraît plutôt s'être exalté.

Etude Morphologique du Sarcome de JENSEN.

Prélevons la tumeur d'un Rat qui vient de succomber spontanément au développement de son cancer. Nous n'y par-

(1) L'inaptitude aux métastases est un caractère commun à tous les cancers entretenus par greffes sous-cutanées. Cette incapacité peut être absolue, c'est le cas du sarcome de JENSEN du Rat. Dans d'autres cas, elle est relative : ainsi, le lymphadénome de la Souris, transplanté sous la peau des flancs, ne donne de métastases que dans 10 % des cas. MERCIER et GOSSELIN (cf. Soc. de Biologie, 1933, n° 40, p. 921) ont essayé, en modifiant le lieu d'inoculation habituel, d'augmenter le nombre de métastases. Ils y sont arrivés en greffant les implants de lymphadénome du poumon dans la queue de la Souris. Dans ces conditions, sur 5 Souris inoculées, ils ont obtenu 5 fois des métastases ganglionnaires ou cutanées.

Le greffon provenant de métastases ganglionnaires donne plus de métastases que les fragments de tumeurs sous-cutanées.

En résumé, l'origine ganglionnaire des greffons cancéreux augmente considérablement l'aptitude aux métastases du lymphosarcome de la Souris, cette aptitude varie avec le point d'inoculation.

viendrons qu'avec difficulté, car, à ce stade, la tumeur adhère à la face interne du tégument de l'animal. Le massif tumoral isolé a une consistance ferme; sa surface blanchâtre est divisée par quelques incisures peu profondes. La caractéristique anatomique essentielle du sarcome de JENSEN est la dégénérescence précoce dont le centre est le siège : « cette nécrose est déjà prononcée dès le début, dans les tumeurs de 8 à 10 jours » (HAALAND). Cette cavité médiane est remplie de liquide séro-hématique.

A l'examen microscopique, la tumeur de JENSEN a l'aspect classique et uniforme d'un sarcome pur à cellules fusiformes. On observe, par champ, de nombreuses divisions cellulaires indirectes. On note la présence de quelques fibres conjonctives colorées par le bleu d'aniline. Cette fine trame collagène, à larges mailles, est à peine indiquée à la périphérie de la tumeur. Elle est au contraire, dense et serrée dans la région centrale, péri-cavitaire. L'évolution conjonctive des parties les plus âgées de la tumeur est évidente.

Le type histologique ne subit aucune modification à travers les générations successives. Le parenchyme sarcomateux comprend deux éléments cytologiques :

- des cellules malignes, spécifiques : les cellules sarcomateuses;
- des éléments conjonctifs, ordinaires, formant le stroma de la tumeur.

L'école anglaise, avec BASHFORD et MURRAY, a entrepris l'étude histologique des premiers stades du cancer greffé. Elle a désigné sous le nom de « stroma reaction » l'ensemble des remaniements conjonctifs (remplacement du tissu conjonctif du greffon par celui de l'hôte) qui accompagnent la croissance initiale de l'implant.

Ces recherches ont établi la « pérennité des cellules cancéreuses » et ont permis de préciser la signification biologique du cancer greffé. En effet, les cellules de l'hôte ne « se

cancérissent » pas au contact du greffon cancéreux et ne participent pas à l'édification de la masse tumorale, si ce n'est par les quelques éléments vasculo-conjonctifs normaux du stroma nourricier. Seules les cellules de l'implant se développent anarchiquement; les greffes successives ne font qu'entretenir un cancer « tout fait ».

Si cette méthode de travail ne peut servir, semble-t-il, à déterminer l'origine de la déviation pathologique du tissu spontanément cancéreux, elle permet toutefois de provoquer *à volonté* l'apparition d'un processus néoplasique chez l'animal et d'étudier *à loisir* son développement dans des conditions expérimentales variées.

ACTION DE LA CARENCE DE LYSINE
SUR L'EVOLUTION DU SARCOME DE JENSEN
UTILISATION DE LA GLIADINE

— —

Nos expériences consistent donc à greffer un petit fragment de sarcome de JENSEN à de jeunes Rats qui reçoivent depuis un temps variable le régime à la gliadine et dont la croissance est arrêtée.

On sait que, dans notre élevage, le nombre des animaux réfractaires est minime, il y en a environ 5 %. Nous reviendrons sur cette question d'immunité dans la seconde partie de notre travail. Les expériences ont montré que le *pourcentage des reprises de la greffe est le même chez les sujets soumis à la carence de lysine que chez les sujets normaux*; elles ont montré aussi que *la tumeur s'accroît indubitablement, mais beaucoup plus lentement que chez les témoins*.

Nous savons que l'implant sarcomateux pèse au moment de la greffe de 0 gr. 1 à 0 gr. 2 pour tous les animaux.

Examinons, tout d'abord, l'évolution tumorale chez les témoins.

RATS SOUMIS A UN REGIME NORMAL

Poids initial du Rat	En observation pendant	Poids du Rat à l'implantation	Durée de l'évolution de la tumeur	Poids total (Rat et tumeur)	Poids du Rat (tumeur enlevée)	Dimension de la tumeur	Poids de la tumeur isolée
46 gr.	14 j.	73 gr.	43 j.	178 gr.	99 gr.	cm. 6 - 5	79 gr.
46	14	73	39	192		6,7 - 4,1	
44	18	115	38	231	138	10 - 3,8	93
42	18	106	38	217	143	6,6 - 4,4	74
41	14	60	35	185		5,5 - 4,8	
40	35	136	34	250		7,6 - 4,3	
82	35	170	33	241	183	7 - 3,6	58
62	0	62	30	127	79	5 - 5	48
55	0	55	30	97	71	4 - 7	26
53	0	53	30	100	61	4 - 7	39
51	37	104	30	175		5,5 - 3,3	

Nous avons fait de très nombreuses implantations de sarcome à des animaux normalement entretenus. Nous ne mentionnerons ici que quelques expériences, et pour ne pas allonger inutilement le texte, nous indiquerons simplement, en un tableau, les chiffres trouvés qui, mieux que toute description, montreront les résultats obtenus. Nous inscrivons le poids initial du Rat; le temps pendant lequel il fut observé avant l'implantation; son poids au moment de celle-ci; la durée de l'évolution de la tumeur; le poids total de l'animal (avec sa tumeur) en fin d'expérience; les dimensions de cette tumeur que nous avons suivie chaque jour. Pour effectuer la mensuration, nous prenons un vernier et nous mesurons le cancer dans deux sens. Enfin nous indiquons le poids du Rat et le poids de la tumeur, après avoir isolé cette dernière,

ce qui est chose très facile, quand l'évolution n'a pas duré trop longtemps; on la détache aisément des plans cutanés superficiels et des plans musculaires profonds.

On pourra se rendre compte de la rapidité extraordinaire de croissance du greffon dans l'organisme des Rats qui prennent une nourriture normale. On verra, en particulier, une tumeur passer de 0 gr. 1 (ou 0 gr. 2) à 93 grammes en trente-huit jours. Il n'est donc pas exagéré de parler ici de croissance impétueuse (voir les photographies) et il est certain que nous nous trouvons en présence d'un matériel très favorable aux travaux d'ordre histophysiologique ou biochimique sur la prolifération néoplasique.

On constatera également que la tumeur se développe bien, même chez des Rats ne pesant que 50 à 60 grammes; de sorte qu'il sera très facile d'opérer sur de jeunes animaux dans le cas du régime expérimental empêchant la croissance.

Pour étudier maintenant le comportement du greffon sarcomateux chez des animaux soumis au régime spécial à la gliadine, nous dressons un nouveau tableau de chiffres qui permettra de juger les résultats obtenus. De nombreuses expériences furent poursuivies pendant près de deux ans. Mais un certain déchet réduisit fortement le nombre des observations complètes. Quelques animaux, soumis au régime expérimental, maigrissent; nous ne les avons pas utilisés pour la greffe; parfois, les tumeurs de certains sujets furent rongées par des congénères et l'expérience entière dut être interrompue.

Quelles constatations tirer de la lecture de ces chiffres?

On verra tout d'abord que la croissance est bien arrêtée chez les animaux soumis au régime expérimental; il n'y a, bien entendu, pas une fixité absolue du poids, la courbe n'est jamais une horizontale rigoureuse, mais les variations sont le plus souvent très faibles, et de l'ordre de celles qui furent

RATS SOUMIS AU REGIME EXPERIMENTAL (GLIADINE)

Poids initial du Rat	Durée du régime avant la greffe	Poids du Rat à l'implantation	Durée de l'évolution de la tumeur	Poids total (Rat et tumeur)	Poids du Rat (tumeur enlevée)	Dimension de la tumeur	Poids de la tumeur isolée
68 gr.	38 j.	67 gr.	45 j.	80 gr.	64 gr.	cm. 3,7 - 2,7	16 gr.
38	18	40	38	47	37	2,9 - 2,4	10
38	35	39	36	50	38	3 - 2,4	12
108	67	102	22	112	106		6
67	18	65	22	74	67		7
113	18	108	24	110	108		2
110	67	100	22	104	102		2
72	19	74	38	84	81	1,9 - 1,1	3
85	18	82	25	81	77,5		3,5
70	32	67	34	72	56	3,2 - 2,9	16
67	36	65	42	80	58	4,1 - 3,3	22
50	18	50	25	61	56		5
45	19	49	31	49		3 - 2,4	
121	11	118	55	144		5,5 - 4,1	
119	11	122	55	87		5,1 - 2,6	

obtenues dans les classiques expériences d'OSBORNE et MENDEL.

Ainsi que nous nous l'étions proposé, l'implantation du sarcome a donc été réalisée chez des sujets qui révélaient nettement une carence de lysine depuis un temps plus ou moins long, compris entre une dizaine de jours et plus de deux mois.

On remarque immédiatement que le greffon a repris dans cet organisme stabilisé et qu'il a pu s'y développer. Mais, ce développement s'est effectué au ralenti. Le poids, qui atteint la valeur la plus élevée, est de 22 gr. pour une tumeur qui

a évolué pendant 42 jours chez un Rat de 65 grammes au départ; la différence est déjà énorme avec ce qui se passe chez le sujet normalement nourri, comme le montre la comparaison des deux tableaux. Mais dans la majorité des cas, la croissance tumorale a été beaucoup plus faible encore, et nous avons donné des reproductions photographiques qui révèlent nettement cette grosse différence.

Il faut cependant se rendre compte que, lors de son enfouissement dans l'organisme porte-greffe, le greffon pesait seulement de 0 gr. 1 à 0 gr. 2. Il a donc, parfois, plus que centuplé en une quarantaine de jours, dans un organisme à croissance arrêtée.

Nous avons alors le droit de conclure de ces premières recherches, *qu'en présence, dans l'alimentation, de traces de lysine qui ne permettent pas la croissance des Rats, la tumeur de JENSEN peut cependant se développer dans l'organisme de ces animaux. Toutefois, cette prolifération néoplasique est beaucoup moins intense que chez les témoins normalement nourris.*

Devant ces résultats, différentes hypothèses viennent à l'esprit pour tenter de trouver une explication plausible de la lenteur du développement néoplasique.

Deux alternatives se présentent : ou bien la cellule sarcomateuse peut se passer de lysine alimentaire, elle en ferait alors la synthèse, à moins que cette substance ne lui soit absolument inutile; ou bien elle en a besoin pour construire son protoplasme.

Si elle est capable de s'en passer, que signifie le ralentissement de croissance ?

Si la lysine lui est indispensable, pourquoi cette prolifération ralentie certes, mais encore évidente ?

Dans la première hypothèse, on peut fort bien expliquer le ralentissement de la prolifération néoplasique par le médio-

cre état général des animaux en expérience. Nous savons que de nombreux auteurs ont signalé l'influence de l'état général sur le développement des cancers. Il est certain que la pâtée expérimentale plaît beaucoup moins aux animaux qu'une nourriture ordinaire composée de pain, de carottes, de salade, de grains, etc... Si l'on remplace en effet la gliadine par la lactalbumine dans l'alimentation, on note, certes, une augmentation pondérale ainsi que le démontre une courbe antérieurement donnée, mais cette croissance est beaucoup moins rapide que celle qui s'accomplit sous l'influence d'un régime normal.

Dans la deuxième hypothèse, on suppose que la lysine est nécessaire à l'édification du parenchyme sarcomateux, comme elle l'est à la croissance normale de l'organisme entier. Et la prolifération faible, mais cependant perceptible de la tumeur, s'expliquerait par les petites quantités de lysine qu'apporte le régime expérimental.

On doit, en effet, remarquer que le régime à la gliadine, bien qu'arrêtant la croissance de l'organisme, n'est pas totalement dépourvu de lysine. Le dosage effectué par Mlle MOURROT, nous a appris qu'il y avait environ 0 gr. 33 de cette substance dans 100 gr. de la gliadine préparée par nous; les autres constituants du régime sont également susceptibles d'en introduire quelques traces, la levure en particulier.

Il est indispensable de tenir compte alors des observations faites par HART, NELSON et PITZ en 1918, au sujet des expériences d'OSBORNE et MENDEL. Dans leurs publications de 1912, ces derniers auteurs avaient signalé que les femelles de Rats, recevant de la gliadine comme seule source d'azote, étaient capables d'allaiter des petits dont la croissance s'effectuait régulièrement. Ces expériences laissaient l'impression que la glande mammaire pouvait effectuer la synthèse de la lysine.

Mais des erreurs ont pu entacher ces résultats, car le régime d'OSBORNE et MENDEL n'était pas absolument dépourvu de l'acide-amino de croissance. Ces auteurs eux-mêmes signalaient, en 1915, que leur gliadine, purifiée le plus possible, pouvait encore renfermer 1,21 % de lysine; l'usage du « protein-free milk » introduisait également quelques traces de lysine.

Pour lever ces objections et savoir si vraiment la glande mammaire est capable de synthétiser la lysine, HART, NELSON et PRIZ, reprirent les expériences en utilisant non plus la gliadine du blé comme protéique, mais la zéine du maïs, cette dernière ne contenant ni lysine, ni tryptophane.

Le régime est composé de la façon suivante:

Zéine	19,46
Tryptophane	0,54
Lactose	20,
Dextrine	48,
Graisse de beurre....	5,
Agar	2,
Mélange salin	5,

auquel on ajoute, comme source de vitamines solubles dans l'eau, un extrait alcoolique de poudre de lait, ou encore de la levure de bière.

Les femelles ainsi nourries ont pu accoucher de petits bien constitués, il est probable que le développement des embryons s'est effectué aux dépens de réserves maternelles. Mais il fut constaté que les nourrissons ne purent survivre que très peu de temps.

L'addition de lysine au régime entraîna une survie beaucoup plus longue des petits, mais leur courbe de croissance ne fut néanmoins pas normale, les auteurs pensent que la zéine n'est pas facilement digestible; ils ajoutèrent dans certains cas de l'arginine et de l'histidine sans obtenir d'ailleurs

une amélioration notable, ainsi que le montre l'examen de leurs courbes.

Un régime entièrement dépourvu de lysine, donné à la mère, ne permet donc pas la croissance des nourrissons. Contrairement à ce que pensaient OSBORNE et MENDEL, la mamelle ne peut effectuer la synthèse de la lysine. S'ils ont pu obtenir le développement normal des petits allaités par des mères entretenues à la gliadine, c'est que le régime employé contenait suffisamment de lysine pour permettre cette croissance.

Cette observation est, pour nous, de la plus haute importance, il est fort possible que le sarcome ait besoin de lysine pour s'accroître et que le développement si ralenti, qui fut obtenu, soit dû à la lysine contenue dans l'alimentation expérimentale.

Il nous faut donc reprendre les expériences en modifiant la constitution de la pâtée et en utilisant un régime plus adéquat, dans lequel n'entrera pas trace de lysine, pour autant qu'on puisse l'affirmer.

UTILISATION DE LA ZEINE

Nous avons donc songé à tourner la difficulté en abandonnant la gliadine et en nous adressant à la zéine du maïs comme matière protéique. D'après MITCHELL et HAMILTON (1929), la composition de la zéine en ses principaux acides aminés, serait la suivante:

Arginine	Histidine	Lysine	Cystine	Tryptophane	Tyrosine
3,6	2,1	0,0	0,6	0,0	2,8

Elle ne renferme donc ni lysine, ni tryptophane. Cette absence de lysine nous convient parfaitement, mais il faut ob-

vier à celle du tryptophane, ce dernier étant absolument indispensable au maintien du poids, ainsi que nous l'avons signalé au début de ce mémoire. Nous ajouterons donc du tryptophane à la zéine pour obtenir une ration protidique apte au maintien de l'équilibre et insuffisante pour la croissance.

Nous avons employé le tryptophane gauche des Etablissements HOFFMANN-LA ROCHE.

Nous nous sommes heurtés pour la zéine aux mêmes difficultés que pour la gliadine. Ces substances n'existent ni l'une ni l'autre dans le commerce. Il fut donc indispensable d'en préparer au laboratoire. Dans l'Institut de M. le Professeur TERROINE, que nous avons déjà mis si largement à contribution, Mlle RAJZMANN a bien voulu se charger de cette fabrication. La préparation de la zéine est beaucoup plus longue que celle de la gliadine, et son rendement beaucoup plus faible.

Préparation de la zéine : La zéine du maïs est insoluble dans l'eau et dans l'alcool absolu; elle est très soluble dans l'alcool à 80°-90°, ainsi que dans la potasse à 0,2 %. La farine du maïs en renferme environ 5 %, il est préférable de prendre de la farine blanche, mais on trouve plus facilement la farine jaune.

On effectue plusieurs extractions alcooliques à froid de la farine de maïs en prenant chaque fois 500 cc. d'alcool à 80°-90° pour 100 gr. de farine. L'extraction se fait pendant 12 heures sur l'agitateur automatique. Les extraits alcooliques sont réunis et filtrés sur la pâte à papier, sous vide, au BÜCHNER. On les concentre alors par distillation sous vide, en ajoutant vers la fin de l'opération, un peu d'alcool à 95° pour éviter la coagulation. Le sirop est versé lentement dans 8 à 10 volumes d'eau fraîche légèrement salée. La zéine est précipitée. Elle est ensuite fragmentée en petits morceaux et dissoute à nouveau dans l'alcool à 90°-95°.

La solution alcoolique de zéine est agitée dans une boule à décantation avec de l'éther de pétrole, pour éliminer les graisses. On fait trois lavages à l'éther de pétrole. Après décantation, la solution de zéine est versée lentement dans un excès d'éther sulfurique (1), la zéine se précipite. L'addition à l'éther d'une petite quantité d'acétate d'ammonium en solution alcoolique facilite la précipitation. L'éther qui a servi à la précipitation, peut d'ailleurs, être versé dans de l'eau, on récupère ainsi une certaine quantité de zéine non précipitée dans l'éther. Toute la zéine obtenue est à nouveau dissoute dans l'alcool à 95°. Elle est précipitée une dernière fois dans un excès d'eau fraîche salée. Après dessiccation à l'étuve, on la passe au moulin à café.

Une telle préparation est très onéreuse et nous avons pu, grâce à l'obligeance de M. le Professeur TERROINE, réunir 200 gr. environ de zéine pulvérisée.

Etant donné le temps que nécessite un dosage de lysine, nous n'avons pas recherché sa présence dans notre zéine. Mais, cette substance doit être suffisamment purifiée, car, la réaction de VOISENET, caractéristique du noyau indol, n'a révélé aucune trace de tryptophane alors qu'on obtenait une coloration franchement violette avec la farine de maïs.

Expériences entreprises avec la zéine.

Nous avons pu entreprendre une autre série d'expériences en utilisant un régime expérimental semblable à celui que nous avons précédemment indiqué, mais dans lequel on a remplacé les 18 gr. de gliadine par une quantité égale de zéine, en ajoutant en plus 1 gr. de tryptophane.

(1) Dans le Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden d'ABDERHALDEN, OSBORNE et STRAUSS signalent qu'on peut précipiter la solution de zéine dans un mélange d'alcool à 95° (2 vol.) et d'éther éthylique (1 vol.); nous avons obtenu une meilleure précipitation en prenant de l'éther sans alcool.

Nous devons ainsi avoir une ration albuminoïde suffisante pour les besoins d'usure, puisque OSBORNE et MENDEL ont pu maintenir un jeune Rat de 50 gr. en « plateau » pendant 95 jours, en lui donnant comme substance azotée 17 gr. 46 de zéine et 0 gr. 54 de tryptophane.

A notre grand regret, il nous a été impossible de multiplier les expériences, notre faible provision de zéine ne nous le permettait pas !

Nous allons enregistrer les résultats obtenus en un tableau, comme il fut procédé pour les expériences entreprises avec la gliadine.

RATS SOUMIS AU REGIME EXPERIMENTAL (Zéine et tryptophane)

Poids initial du Rat	En observation pendant	Poids du Rat à l'implantation	Durée de l'évolution de la tumeur	Poids total (Rat et tumeur)	Poids du Rat (tumeur enlevée)	Dimension de la tumeur	Poids de la tumeur isolée
53 gr.	5 j.	77gr-71gr	28 j.	56 gr.	51 gr.	2,6 ^{cm.}	5 gr.
51	5	70 - 64	26	63	51	3,2	12
63	5	78 - 70	23	52	49,3	1,7	2,7

Les deux chiffres mentionnés dans la colonne réservée au poids à l'implantation indiquent, l'un, le poids du Rat avant le jeûne, l'autre, le poids après les 24 heures de jeûne qui précéderent le jour de l'implantation.

Les animaux ont été soumis au régime expérimental le jour même où l'on pratiqua l'implantation.

Nous avons commencé six expériences et nous pensions obtenir une réponse suffisamment nette, permettant de voir si la tumeur prolifère ou non, en l'absence de lysine dans le régime.

Hélas, la réalisation expérimentale de ces recherches sur les régimes alimentaires synthétiques est souvent très déce-

vante. Le régime à base de zéine et de tryptophane, qui devait permettre le maintien du poids, aussi bien qu'avec la gliadine, nous a fourni en réalité des résultats beaucoup moins satisfaisants.

Nous donnons les chiffres de trois expériences qui indiquent que la tumeur s'est développée chez les Rats soumis à la carence de lysine. Chez l'un d'eux, le sarcome a atteint le poids de 12 gr. en 26 jours d'évolution, c'est un développement beaucoup plus intense que celui qui fut enregistré dans le cas de la gliadine où, pour la même durée d'évolution, nous n'avons obtenu que des tumeurs pesant 7 grammes au maximum. Mais le poids de l'animal a diminué !

Chez un autre Rat, qui ne figure pas au tableau, le poids est resté stationnaire pendant un mois, le greffon lui aussi, s'est stabilisé; pendant tout ce temps, il garda la taille d'un grain de café, mais dès que l'animal fut soumis au régime normal, la prolifération néoplasique, jusqu'alors latente, s'effectua avec une rapidité extraordinaire. (1)

Nous devons donc reconnaître qu'en l'absence de lysine, le cancer s'est développé, mais les Rats ont fortement maigri, chez l'un d'eux, la perte du poids corporel fut égale au gain pondéral de la tumeur. Quand le poids resta « en plateau », la tumeur ne s'accrût pas.

Dans les expériences mentionnées sur le tableau, le poids des sujets ayant diminué, on peut parfaitement supposer qu'un transfert de substances s'est effectué entre l'organisme du porte-greffe et le greffon, à l'avantage de ce dernier.

(1) Dans son livre : *Sénilité et Rajeunissement*, LUMIÈRE (1932) suppose que la division cellulaire, entraînant l'élaboration de colloïdes jeunes, s'oppose à la sénilité cytoplasmique et à la mort cellulaire. Si l'on arrive à arrêter cette prolifération pendant un temps assez long pour permettre le vieillissement des colloïdes, la cellule ne pourrait plus se multiplier. Il n'en fut pas ainsi dans l'expérience que nous mentionnons.

De sorte que, ces différents résultats sembleraient indiquer qu'en l'absence de lysine alimentaire, la tumeur pousse mal, à moins que le porte-greffe ne fasse les frais de son développement.

Le porte-greffe peut, en effet, fournir l'amino-acide au greffon. Nous avons déjà fait allusion aux résultats importants obtenus par Mme A. ROCHE. Au cours de l'inanition protéique, la durée de survie des Rats varie de un à deux mois et demi; alors qu'elle est de deux à huit jours dans l'inanition totale.

L'étude des constituants du muscle indique que du protoplasme musculaire est mobilisé au cours de l'inanition protéique. L'organisme couvrirait alors son besoin azoté aux dépens des protéines musculaires de constitution. On découvre, en effet, des modifications profondes dans la constitution de ces protéines musculaires, il y a une « dislocation partielle » du protoplasme musculaire; le taux de la cystine, de l'arginine, de l'histidine demeure sensiblement constant, tandis que la teneur en tryptophane, en tyrosine et surtout en *lysine* s'abaisse.

On peut se demander si cette « dislocation sélective » avec libération de lysine n'est pas intervenue dans nos expériences.

Notre régime « zéine-tryptophane » s'est révélé nettement insuffisant. Est-ce dû à la zéine qui, dit-on, est indigeste ? est-ce dû à la qualité du tryptophane ? Nous l'ignorons, mais nos Rats semblent avoir été soumis à une inanition protéique relative.

DISCUSSION DES RESULTATS

Ces expériences, qui, pensions-nous, devaient apporter une réponse définitive, doivent être poursuivies. La réponse ne fut, jusqu'à présent, que partielle.

Nous avons commencé, en collaboration avec Mlle MOUROT, une série de recherches, qui nous apporteront sans doute de précieuses indications. Il s'agit *du bilan de lysine*. Nous avons hydrolysé des Rats témoins, prenant un régime normal, semblable à celui des sujets qui furent ensuite soumis à l'alimentation expérimentale.

Nous connaissons ainsi la quantité de lysine dans l'organisme des animaux au début de l'expérience. Nous calculerons également la quantité de lysine qui a pu être ingérée avec la nourriture, la quantité totale de cette dernière étant connue. Enfin, nous doserons la lysine dans la tumeur et dans le Rat séparé de sa tumeur. Ces chiffres nous fourniront sans doute la clé du problème. Ces dosages, effectués par Mlle MOUROT, se poursuivent à l'heure actuelle, mais ils sont extrêmement longs et demandent beaucoup de minutie. Les résultats feront l'objet d'un autre travail, qui sera la suite de ce mémoire.

Nous pouvons néanmoins émettre la conclusion suivante:

En présence d'une faible quantité de lysine dans l'alimentation ne permettant pas la croissance, le sarcome de JENSEN a cependant proliféré chez des Rats dont le poids n'a, pour ainsi dire, pas varié dans beaucoup de cas. Mais, cette prolifération fut très ralentie par rapport au développement normal de ce cancer. Il est possible que la lysine alimentaire ait permis cette légère croissance tumorale.

Dans le cas d'un régime dépourvu de lysine, la tumeur a

proliféré quand l'animal a maigri. Dans un cas où le poids se figea en plateau, la tumeur ne put s'accroître.

Ceci semblerait indiquer que la croissance tumorale s'est effectuée au détriment du porte-greffe. La cellule sarcomateuse a peut-être besoin de lysine pour proliférer comme une cellule normale.

Au cas où l'acide aminé de croissance serait indispensable à la prolifération néoplasique, on pourrait être enclin à envisager une application pratique puisque la lysine ne paraît plus nécessaire chez l'adulte. Mais on se heurterait sans doute à de grandes difficultés, voire même à une impossibilité.

En outre des complications extrêmes de réalisation, il faudrait songer à cette question primordiale du transfert, à cette sorte d'attraction particulière que présentent certains tissus pour certaines substances. On songe à l'exemple du Saumon du Rhin, pendant le jeûne duquel des substances musculaires sont libérées au profit des éléments séminaux.

Il est intéressant de signaler à ce sujet les résultats que nous avons obtenus sur le germe des animaux carencés.

R. COURRIER et R. RAYNAUD ont déjà étudié l'aspect des glandes génitales chez les Rats alimentés à la gliadine.

Le germe paraît moins touché que le soma. Le cycle ovarien est le plus souvent entravé chez les animaux qui subissent la carence de lysine, la plupart des femelles en expérience présentent des frottis vaginaux décelant le repos ovarien. Il suffit de pratiquer sur elles, des implantations d'hypophyse, pour obtenir rapidement l'« activation » ovarienne. Mais on peut se demander si le manque de lysine a exercé sur l'ovaire une influence vraiment spécifique et s'il ne s'agit pas plutôt d'un trouble dû au régime expérimental dans son ensemble; on connaît, en effet, la fragilité extrême du mécanisme ovarien.

Par contre, chez les mâles qui subissent la carence de lysine, la spermatogénèse s'effectue d'une façon régulière. COURRIER et RAYNAUD l'avaient signalé; nous confirmons ce fait par nos expériences. Chez des mâles carencés, qui étaient impubères au moment où ils furent soumis au régime expérimental, l'évolution de la lignée séminale s'effectua normalement. Les processus spermatogénétiques nous parurent également normaux chez des sujets soumis au mélange zéine et tryptophane, tout au moins pendant le temps que dura l'expérience.

On pourrait être amené à supposer, devant ces résultats, que les besoins nutritifs des diverses catégories cellulaires sont différents et que le germe est capable d'effectuer certaines synthèses, qui ne peuvent se réaliser dans le soma. Cette dissociation entre le développement du soma et celui du germe rappelle celle que présentent les Batraciens néoténiques par une insuffisance thyroïdienne.

Il est intéressant de signaler aussi que le cancer s'accroît chez les animaux hypophysectomisés, dont les développements somatique et génital sont arrêtés; c'est ce qu'a mis en évidence Mc EUEEN (1933), en opérant sur la tumeur de WALKER du Rat.

Mais, si l'on tente de donner une explication à ces différents résultats, on se trouve toujours en présence du même dilemme; ou bien, les besoins nutritifs des différents éléments tissulaires sont variables, ou bien, il existe des transferts entre les différents tissus — des organes attirant plus énergiquement que d'autres certains constituants chimiques, — on connaît à ce sujet le rôle de réserves nucléiniennes exercé par le thymus et les organes lymphoïdes.

DEUXIEME PARTIE

**IMMUNITE, DEFENSE ET HEREDITE
DANS LES PROCESSUS CANCEREUX**

IMMUNITE, DEFENSE, HEREDITE DANS LES PROCESSUS CANCEREUX

Les lois biologiques qui régissent l'immunité et l'hérédité cancéreuses ne peuvent être étudiées que si l'on possède le moyen de déterminer à volonté, l'éclosion du cancer chez l'animal.

Ces phénomènes sont restés peu connus, tant qu'ils ont eu pour base l'observation humaine. L'investigation clinique est, en effet, manifestement insuffisante: les greffes cancéreuses interhumaines, tentées quelquefois et condamnables dans leur principe, n'ont apporté aucune donnée intéressante.

Pour entreprendre des recherches de cette nature, il faut nécessairement se servir d'un cancer greffé en série, donnant une grande sécurité quant à la reprise des greffons et à la rapidité de leur évolution ultérieure. Le sarcome de JENSEN, pour des raisons déjà données, convient parfaitement à cette étude. Il y a nécessité d'employer des animaux de même provenance. C'est là, on le conçoit, une condition éminemment favorable à l'étude de l'immunité individuelle.

Dès 1910, CONTAMIN et surtout J. CLUNET, dans sa remarquable thèse, étudiaient, à l'aide des tumeurs transplantables chez la Souris, les processus de l'immunité cancéreuse.

Les principaux résultats expérimentaux relatifs à l'hérédité du cancer, sont dûs à BASHFORD (1908), et à TIZZER (1908). Mais, l'étude *systématique* et prolongée de cette question est due à Mlle Maud SLYE. Ses observations innombrables ont

porté sur l'examen nécropsique et histologique de plusieurs dizaines de milliers de Souris dont les ascendants avaient été cancéreux. Ces recherches, étendues sur 14 années et publiées en 1922, tendent à faire du cancer un mal héréditaire dont la transmission obéirait aux lois de l'hérédité mendélienne. Ces conclusions n'ont pas été admises par tous les observateurs, et les divergences d'opinion que la méthode expérimentale a soulevées, démontrent assez la complexité du problème de l'hérédité cancéreuse.

CHAPITRE I

IMMUNITE ET DEFENSE

Les greffes en série de sarcome de JENSEN du Rat, ont permis de constater que les implants n'ont pas tous la même destinée chez les animaux inoculés. Dans la majorité des cas, nous l'avons vu, les greffons se développent d'une façon *continue*, et tuent leur porteur en quelques semaines. Mais plus rarement (2 à 5 % des cas environ), les Rats greffés résorbent leur implant.

Cette résorption peut être immédiate : dans ce cas, le greffon, sitôt inoculé, est « digéré ». Quelquefois, l'implant subit un début de croissance et acquiert le volume d'un grain de café, puis son développement s'arrête, et l'on assiste à sa diminution progressive et à sa disparition en 8 à 10 jours. Ces inoculations négatives témoignent, chez ces animaux réfractaires, d'un état de *résistance* ou *d'immunité*.

L'immunité individuelle et spontanée dont bénéficient quelques animaux vis-à-vis du cancer greffé, est incontestable. Mais il est nécessaire, pour mettre ce fait remarquable à l'abri de la critique, d'opérer dans des conditions expérimentales rigoureuses. Il importe d'éliminer les cas de *résistance apparente*, relevant d'une technique défectueuse, du mauvais état général de l'animal ou d'une alimentation insuffisante.

Il est également indispensable que la tumeur, vis-à-vis de laquelle le Rat est considéré comme réfractaire, soit parfaitement virulente pour ses congénères.

En résumé, on peut affirmer l'existence d'une immunité cancéreuse chez un animal greffé, lorsque sa tumeur régresse et disparaît spontanément en quelques jours, alors que, chez les Rats témoins, greffés avec la *même* tumeur, suivant la *même* technique, les greffons font la preuve de leur malignité en provoquant, par leur développement excessif, la mort des animaux dans un délai de 7 à 8 semaines.

Cette immunité spontanée peut être *définitive* et durer toute la vie de l'animal : les inoculations successives sont dans ces conditions assurément résorbées.

Mais l'immunité n'est pas nécessairement permanente. Pour des raisons qui nous échappent, un Rat immun peut perdre ce privilège : une série d'inoculations négatives chez un animal, peut être suivie d'une greffe positive. A côté d'une immunité spontanée permanente, il convient d'envisager une *immunité spontanée temporaire*.

Enfin, les implants cancéreux n'évoluent pas toujours suivant les processus indiqués. Le développement du sarcome peut être *uniformément* ralenti. La puissance de prolifération est simplement diminuée, mais ce fait n'affecte en rien le volume final de la tumeur qui est considérable. Dans ce cas, le cancer tue l'animal en 10 à 12 semaines, au lieu de 6.

Nous rapporterons maintenant quelques exemples, observés dans notre élevage de Rats, qui illustrent particulièrement les faits précités.

Immunités spontanées permanente et temporaire.

5 Octobre 1932.

Un lot de Rats pesant de 61 gr. à 144 gr. est inoculé sous la peau à l'aide de fragments néoplasiques que l'on prélève à la périphérie d'une tumeur âgée de 16 jours et du volume d'une noix.

29 Octobre 1932.

Tous les Rats sont porteurs d'une tumeur du volume d'une noix, sauf 2 mâles, qui n'ont pas de cancer. A cette date, les 2 Rats réfractaires sont à nouveau implantés à l'aide d'une tumeur grosse comme un petit œuf de Poule, âgée de 22 jours.

15 Novembre 1932.

Sur les 2 Rats mâles greffés 17 jours avant, les implants tumoraux sont très petits.

20 Novembre 1932.

Les 2 Rats n'ont plus *trace de tumeur*.

31 Décembre 1932.

On implante ces 2 mâles, deux fois réfractaires, à l'aide d'une tumeur âgée de 16 jours, grosse comme une noisette.

14 Mars 1933.

L'un des 2 Rats qui avait résorbé deux fois son implant a une tumeur énorme, qui est restée pendant 1 mois et demi peu volumineuse (grosse comme un grain de café). Vers le 15 février, la tumeur s'est développée brusquement.

Le second Rat est réfractaire pour la troisième fois.

15 Avril 1933.

On greffe ce mâle réfractaire.

3 Mai 1933.

Il a résorbé encore son greffon; 17 jours après la greffe, il n'avait pas trace de tumeur. Il est mort spontanément à ce moment.

En résumé, de ces animaux:

— l'un était porteur d'une immunité spontanée permanente durant le temps de l'expérience, puisque greffé 4 fois, il a chaque fois résorbé ses implants, virulents cependant pour ses congénères.

— l'autre, présentait une immunité spontanée temporaire. Les deux premiers implants sont restés sans effet. Le troisième s'est développé en 10 semaines (au lieu de 6). Il est resté durant 6 semaines très petit. Puis, la tumeur s'est brusquement développée et a tué l'animal dans les délais habituels (1 mois).

Cas d'immunité spontanée permanente.

19 Octobre 1932.

On implante un lot de Rats avec une tumeur âgée de 12 jours.

29 Octobre 1932.

Chez tous, la tumeur est comme une noisette sauf chez un gros Rat mâle qui est indemne.

15 Novembre 1932.

27 jours après la greffe, un autre petit mâle a résorbé sa tumeur. Il y a donc 2 mâles spontanément réfractaires. On les greffe avec une tumeur âgée de 27 jours.

20 Novembre 1932.

Les tumeurs de ces 2 animaux sont perceptibles mais petites, de volume sensiblement égal, avec un léger avantage en faveur du petit Rat.

29 Novembre 1932.

Les implants ont le volume d'un petit pois, et sont nettement plus petits que ceux des 6 témoins, greffés le même jour, avec la même tumeur.

21 Décembre 1932.

On ne perçoit plus trace de tumeur.

31 Décembre 1932.

On greffe ces 2 animaux sans succès.

15 Avril 1933.

On effectue une nouvelle implantation.

3 Mai 1933.

Les 2 Rats sont morts sans trace de tumeur.

Ces 2 Rats étaient porteurs d'une immunité permanente pendant la durée de l'expérience puisqu'ils ont résorbé 4 greffes successives. La greffe du 19 Octobre 1932 a été d'emblée digérée par le gros Rat. Elle s'était développée et avait acquis, au moins, le volume d'une noisette chez le petit.

Durée anormalement longue de l'évolution d'une tumeur :

7 Octobre 1932. — Implantation de fragments d'une tumeur âgée de 18 jours, à 6 Rats.

29 Octobre 1932. — 5 d'entre eux ont de grosses tumeurs. Le 6^e a un implant plus petit.

15 Novembre 1932. — Sur 3 Rats restant, 2 ont des tumeurs énormes, le 3^e a une tumeur comme une noix.

20 Novembre 1932. — Cette tumeur ne croît pas beaucoup.

29 Novembre 1932. — Elle est grosse comme un œuf de Poule.

21 Décembre 1932. — La tumeur est très volumineuse, elle s'ulcère.

26 Décembre 1932. — On sacrifie le Rat, dont la tumeur est énorme.

Poids du Rat sans tumeur	180
Tumeur isolée	120

Cette tumeur a évolué lentement en 2 mois et 19 jours.

Parmi les témoins greffés le même jour, avec la même tumeur, trois sont morts spontanément le 12 novembre 1932. La durée d'évolution a été chez eux, de 1 mois et 5 jours.

L'immunité spontanée, vis-à-vis du cancer greffé, trouvée d'abord chez la Souris, puis vérifiée chez le Rat à l'aide de différentes variétés de tumeurs, est un fait d'une signification générale. Son mécanisme a suscité des hypothèses multiples de la part de nombreux chercheurs.

Dès 1907, EHRLICH formulait une théorie qui devait avoir une grande vogue. Connue sous le nom d'*immunité athrétique*, cette théorie explique assez bien les phénomènes de résistance naturelle et ceux de résistance provoquée par la grossesse et par la lactation. Les faits expérimentaux sont les suivants :

EHRLICH inocule à un Rat une tumeur épithéliale très virulente de la Souris. Cette tumeur se développe bien pendant quinze jours chez cet animal, puis elle se résorbe et disparaît. Si, avant sa disparition, on greffe un fragment de cette tumeur à un second Rat, le greffon *ne se développe pas du tout*. Inoculé à une Souris, cet implant, dont l'effet a été nul chez le second Rat, est capable d'un développement normal. Ultérieurement, cette tumeur, greffée à un Rat, pourra y subir un début de croissance. En résumé, la tumeur transplantable de la Souris, n'effectue son développement complet et ne peut être greffée en série *que chez cet animal* ; inoculée au Rat, elle subit un *début de croissance*, puis elle dégénère ; elle *s'éteint* complètement au second passage.

EHRLICH interprète ces faits de la façon suivante : pour se développer, la tumeur a besoin de certains éléments nutritifs spécifiques ; elle trouve normalement ces éléments dans « l'animal terrain » (Souris) où elle s'est développée initialement. Ces substances nutritives manquent chez un animal d'espèce différente. Cette carence explique l'insuccès des hétéro-greffes.

Relativement à la nature de cette carence, EHRLICH pense qu'il ne s'agit pas d'un manque de nourriture au sens banal du mot : ce qui le démontre bien, écrit-il, c'est la

forte croissance pendant la première semaine chez le Rat. L'organisme du Rat renferme des matériaux nutritifs très abondants qui permettent une forte prolifération.

Le cancer de la Souris aurait besoin, pour se développer, d'une « *substance excitante spécifique X* » qui ne se trouve que dans l'organisme Souris. Lorsque l'on greffe le Rat, une certaine quantité de cette substance spécifique est transplantée par inoculation sur ce dernier animal. Cette faible quantité suffit à présider au développement initial du greffon chez le Rat. Mais, quand cette « *substance X* » est épuisée, la tumeur dégénère et disparaît; ainsi carencée dans l'organisme du Rat, elle ne reprendra que si on la transporte dans l'organisme de la Souris, qui renferme cette substance. EHRLICH explique donc l'immunité naturelle des Rats vis-à-vis du carcinome transmissible de la Souris, par le « manque d'une matière de croissance indispensable ».

Cette hypothèse a été ensuite appliquée aux animaux de même espèce pour justifier la résistance que quelques rares d'entre eux opposent aux greffons cancéreux, par ailleurs virulents. Les Rats qui, pour une raison inconnue, sont privés de cette substance X, sont inaptes à assurer le développement du cancer greffé.

La théorie de l'immunité athrépsique d'EHRLICH permet d'interpréter d'autres faits expérimentaux.

On a remarqué que les greffons faits à un animal déjà porteur d'une volumineuse tumeur, ne se développent pas, ou se développent mal. En effet, le premier cancer, déjà étendu et bien vascularisé, dérive à son profit tous les éléments nutritifs du sang, indispensables à assurer la croissance de la seconde tumeur. De même, greffons à un animal une seconde tumeur *peu de temps* après la première, les deux cancers se développent alors, en gardant entre eux une différence de volume que leur différence d'âge explique: le premier cancer, encore petit et peu exigeant lors de la seconde greffe, a

permis le développement de la deuxième tumeur. Enfin, si nous greffons *simultanément* à un même Rat, deux implants cancéreux, ils se développent parallèlement, mais la somme de leur volume final n'excèdera pas celui qu'aurait acquis un seul implant dans le même temps.

On peut aussi interpréter, à l'aide de l'hypothèse d'EHRlich, les modifications de l'aptitude aux métastases que les cancers greffés ont subi au cours du temps, ainsi que l'aptitude particulière des tumeurs de différente nature à se généraliser. EHRlich a fait remarquer très justement que ce sont les tumeurs de développement moyen qui se prêtent le mieux aux généralisations métastatiques. Au contraire, les tumeurs à croissance rapide sont inaptées aux métastases: en effet, le cancer, dans ce cas, mobilise à son profit tous les éléments nutritifs de l'organisme greffé. Ces conditions sont peu favorables au développement des cellules cancéreuses embolisées. Elles seront bien meilleures si la puissance de prolifération du cancer greffé est moindre. L'absence de métastases macroscopiques, argument quelquefois invoqué pour enlever aux tumeurs greffées toute signification de cancer véritable, « ne témoigne nullement, écrit EHRlich, contre la malignité de ces tumeurs, elle est justement l'expression d'une forme particulière de cette malignité, déterminée par une énergie de croissance considérable. »

Cette théorie du manque de nutrition s'accorde aussi avec certaine forme de résistance naturelle liée à l'état de grossesse, (l'utérus gravide étant assimilé à une tumeur), à la lactation ou à la débilité.

Comme on le voit, de nombreux faits s'accordent avec l'hypothèse d'EHRlich, mais elle n'est pas à l'abri de toute critique. Si cette théorie était exacte, les greffons, tous sensiblement de même taille, renfermeraient la même quantité de substance X, qui devrait suffire à l'élaboration d'un certain volume de parenchyme tumoral. Dans ces conditions,

chez les Rats, même réfractaires, on devrait observer un début de développement cancéreux. Ce fait s'observe chez quelques Rats immuns. Mais, quelquefois, il n'y a pas de prolifération passagère: le greffon, dès son implantation est immédiatement « digéré ». La théorie d'EHRlich est ici manifestement en défaut. Elle ne peut rendre compte de tous les cas observés expérimentalement.

A côté de l'immunité naturelle spontanée, il existe un état réfractaire, lié aux conditions physiologiques dans lesquelles se trouvent les animaux. Ainsi, on a remarqué que les femelles en état de grossesse ou allaitant leurs petits, constituent un terrain peu favorable au développement du cancer greffé.

CUENOT et MERCIER, APOLANT, Jean CLUNET, se sont, dès 1909, attachés à cette étude (1). Ils utilisent des néoplasmes de nature épithéliale ou sarcomateuse entretenus par greffe. Ces résultats ne furent pas retrouvés à l'aide de tumeurs de nature différente se développant lentement (chondrome). Ils constatent que la greffe se développe pendant la grossesse, mais généralement avec moins de rapidité que chez les animaux témoins; le cancer cesse de s'accroître quelques jours avant l'accouchement, et cet arrêt se maintient pendant la période de lactation. Ce ralentissement peut être passager: la tumeur se développe ultérieurement et tue l'animal. Dans quelques cas, au contraire, l'animal guérit complètement et, fait curieux, demeure réfractaire à une seconde implantation. La grossesse détermine la régression de la tumeur si celle-ci est peu développée. Si le cancer est plus avancé dans son évolution, il continue sa croissance en dépit de l'apparition de la gestation.

(1) Pour FRANKEL et GERED, l'action empêchante de la grossesse et de la lactation sur le développement tumoral serait due à une déficience en vitamines (1933).

Nous avons observé ce fait, mais dans ce cas, la mère n'a pu allaiter normalement ses petits.

Cas où la grossesse a déterminé une immunité

5 Octobre 1932. — Greffe d'un implant sarcomateux à une femelle.

29 Octobre 1932. — La tumeur est appréciable, elle a le volume d'une petite châtaigne.

18 Novembre 1932. — Conception.

29 Novembre 1932. — La tumeur se résorbe de plus en plus, elle a le volume d'une petite noisette.

6 Décembre 1932. — Cette femelle accouche de cinq petits normaux; elle a résorbé complètement sa tumeur.

On implante un lot de 8 femelles le 7 février 1933.

19 Février 1933. — On introduit dans leur cage un mâle normal; à ce moment, la tumeur de toutes ces femelles est grosse comme une noix.

19 Mars 1933. — Une femelle ayant résorbé sa tumeur accouche de 6 petits; la conception s'est effectuée le 28 février.

15 Avril 1933. — On greffe à nouveau cette femelle dont les petits sont sevrés.

3 Mai 1933. — Cette femelle ne fait pas de tumeur. Elle possède donc une immunité acquise.

Les petits de la femelle, qui avait résorbé sa tumeur à l'occasion de sa grossesse, n'avaient pas d'immunité. (Voir plus loin).

Le 5 Mai 1933, on greffe cette femelle pour la troisième fois.

Le 20 Mai 1933, absence de tumeur.

Le 28 Mai 1933, absence de tumeur. (1)

(1) Il importe de remarquer que certains auteurs ont vu un cancer spontané se développer chez des animaux porteurs d'une immunité à l'égard d'une tumeur transmise par greffe.

Cas où la grossesse n'a pas entraîné l'immunité

5 Octobre 1932. — On greffe une femelle.

29 Octobre 1932. — La tumeur est très nette, volumineuse.

30 Octobre 1932. — Conception.

18 Novembre 1932. — Elle accouche de sept petits. La femelle a un comportement maternel, mais elle ne peut nourrir ses petits.

24 Novembre 1932. — Les trois petits laissés à la mère cancéreuse meurent.

8 Décembre 1932. — La mère meurt de cachexie, sa tumeur est grosse comme un œuf de Poule.

Nous passerons sous silence les discussions ayant trait à l'origine humorale de l'immunité anticancéreuse, et nous envisagerons, en un bref aperçu, les recherches destinées à provoquer expérimentalement un état réfractaire.

Nous avons dit que les cancers greffables entretenus dans les centres de recherches, se développent rapidement, mais ne donnent plus de métastases. Cependant, ainsi que le remarque à juste titre OBERLING, les cellules cancéreuses se répandent dans l'organisme des porte-greffes, puisqu'on produit parfois une tumeur, en inoculant leur sang ou leurs organes à un sujet neuf. C'est l'état de *carcinose latente*.

Or, CLUNET a montré que si l'on pratique l'exérèse chirurgicale des tumeurs, certains opérés guérissent, d'autres présentent une récurrence locale et des métastases. On peut expliquer la récurrence et les métastases par la théorie d'EHRlich, les substances nutritives spécifiques accaparées par la tumeur, sont libres après ablation de cette dernière, et la carcinose latente peut devenir *carcinose évolutive*. Mais on n'explique pas les cas de guérison définitive.

OBERLING a répété les expériences de CLUNET, il pratique des extirpations tumorales *incomplètes* et constate que certains animaux guérissent, le reliquat laissé *in situ* se résorbe. Dans certains cas, on peut donc créer un état de défense en procédant à l'ablation subtotalaire du cancer; l'explication de ce mécanisme reste à trouver.

On a également tenté de créer un état réfractaire par injection de tumeur écrasée, dont tous les éléments cytologiques sont détruits (DELBET); on a utilisé des extraits variés préparés à l'aide de parenchyme néoplasique; on a essayé d'exalter la défense des animaux en leur inoculant des tissus cancéreux de virulence croissante.

BASHORD, MORESCHI, BARONI et COMSIA, ont obtenu parfois une véritable immunité contre le cancer, en greffant préalablement des tissus embryonnaires broyés, aux animaux.

MURPHY a attiré l'attention sur le rôle que peuvent jouer les lymphocytes dans la défense anticancéreuse; les causes favorisant la leucopoïèse ont une action empêchante sur le développement du cancer greffé. Ainsi, les applications ménagées de rayons X, en stimulant le tissu lymphoïde, font diminuer de plus de moitié le pourcentage des implants positifs.

Guidé par cette idée, on procéda à des inoculations de rate et de thymus (FICHERA, etc...), on constata d'autre part que le greffon prolifère plus intensément chez les sujets splénectomisés.

Ces études ont conduit à rechercher le rôle du système réticulo-endothélial dans les processus de défense contre la prolifération cancéreuse. Si l'on effectue le « blocage » de ce système à l'aide de l'encre de Chine, on constate une exacerbation du développement du sarcome de JENSEN (BARONI et COMSIA). Ces derniers auteurs ont alors songé à augmenter la résistance de l'organisme en lui greffant des

parenchymes hémohistioblastiques (rate, épiploon, foie, moelle osseuse), prélevés de préférence chez des sujets déjà immuns.

GROSS et WAJDA ont étudié l'action du placenta sur les sarcomes greffés de la Souris, cet organe exercerait un pouvoir inhibiteur sur la croissance cancéreuse; le placenta de Vache et celui de Lapine n'ont pas cette faculté, qui paraît appartenir en propre au placenta humain.

BARONI et COMSIA, se basant sur le fait que les tumeurs expérimentales n'évoluent pas ou même régressent pendant la gravidité, ont essayé d'immuniser des Rats par des greffes sous-cutanées de placenta et d'embryon homologues. Nous avons déjà indiqué leurs résultats obtenus avec les greffes de tissus embryonnaires. Ils ont également enregistré une action au moyen du tissu placentaire; après traitement préalable avec ce tissu, ils notent un retard appréciable du développement du sarcome de JENSEN, accompagné de guérison dans 41 % des cas.

Nous avons entrepris des expériences analogues, aidé par notre ami Gaston Gros, que nous remercions bien vivement. On a fait ingérer à des Rats, pendant plusieurs semaines, du placenta humain frais, prélevé chaque jour à la Maternité. Les animaux ainsi nourris, et qui d'ailleurs ne recevaient que du placenta pour toute alimentation, se comportèrent exactement comme les témoins. Les greffons sarcomateux qu'ils hébergèrent, subirent une évolution absolument normale. Ces expériences, qui durèrent plus d'un mois et qui furent poursuivies sur plusieurs Rats, ne nous apportèrent, en somme, aucun résultat appréciable; il est vrai que le placenta, administré par la bouche, a subi l'action des ferments digestifs.

L'influence éventuelle des glandes endocrines sur le développement et l'évolution du cancer expérimental fit déjà l'objet de nombreux travaux. On trouvera, dans le magistral

traité de ROUSSY et de ses élèves (1929) sur le cancer, de nombreux renseignements sur ce sujet.

Parmi les recherches les plus récentes, il convient de signaler celles de ARLOING et de ses collaborateurs, sur les propriétés antitumorales des extraits de surrénale; celles de LACASSAGNE, provoquant des cancers de la mamelle chez la Souris mâle soumise à des injections de folliculine, et par le même procédé, la métaplasie épidermoïde de la prostate. Pour LAMBRET et DRIESSENS, les injections d'insuline entraînent la régression et la disparition du sarcome de JENSEN.

KARNICKI estime que les glandes vasculaires sanguines exercent un effet puissant sur l'apparition et la croissance du cancer du goudron chez le Lapin. L'ablation du thymus provoque une accélération; l'extirpation de la thyroïde et des parathyroïdes exerce une action semblable, mais à un degré moindre. Il en est de même de l'ablation des testicules. Par contre l'exérèse d'une surrénale retarde nettement le développement des tumeurs.

CRACIUM, ayant recours au procédé des « greffes affrontées », implante à des Rats, en même temps qu'un greffon sarcomateux (JENSEN), un petit fragment de différents organes; il signale une action inhibitrice du foie, une action stimulante du testicule et de la thyroïde.

A l'Institut d'Histologie de Varsovie, J. FLAKS étudie l'influence de la thyroïde sur le sarcome de JENSEN; la thyroïdectomie provoque un ralentissement de l'activité néoplasique; au contraire, si le greffon est placé au contact de la glande thyroïde, il s'accroît beaucoup plus rapidement que d'ordinaire; ces données s'opposent donc à celle de KARNICKI.

H. et B. ZONDEK, en collaboration avec W. HARTOCH, opèrent sur des Souris blanches, qui reçoivent des transplants de carcinome (Souche de Francfort) proliférant dans 100 pour 100 des cas. Ils constatent que la thyroxine, l'adrénaline, l'insuline seule ou additionnée de glucose, la folliculine,

n'exercent pas d'influence empêchante sur la croissance de cette tumeur. L'administration de Prolan, produit gonadotrope retiré des urines de gestantes, agit de telle sorte que vingt-trois jours après l'inoculation, la tumeur implantée atteint un poids de 0 gr. 2 au lieu de 1 g. 65 chez les témoins. Les tumeurs, dont la croissance a été ainsi inhibée, croissent moins vite si on les implante chez un nouvel animal et la greffe ne prend plus aussi régulièrement.

Pour L. GROSS, il semblerait au contraire que les injections d'urines de femme enceinte, accélèrent le développement du « sarcome viennois », greffé sur des Souris blanches.

A l'aide d'extraits thyroïdiens et de lobe antérieur d'hypophyse, SEISINSKI n'est pas arrivé à modifier l'évolution du cancer du goudron chez le Lapin.

Nous avons nous-mêmes entrepris quelques recherches et étudié l'action, non pas de Prolan urinaire, mais d'extraits hypophysaires sur le développement du sarcome de JENSEN. Les recherches d'EVANS ont montré que certains extraits hypophysaires avaient une action intense sur la croissance des Rats, l'auteur a pu obtenir chez ses animaux un véritable gigantisme à l'aide de ces extraits.

Nous avons préparé un extrait d'hypophyse antérieure de Bœuf, selon la technique d'EVANS, et nous l'avons injecté quotidiennement à des Rats en expérience, en prenant soin dans certains cas, de faire les injections de substance antéhypophysaire quelque temps avant la greffe cancéreuse. De même que pour nos expériences d'ingestion placentaire, il est inutile de fournir des tableaux de chiffres, les résultats sont concordants, nous n'avons pas enregistré la moindre influence au cours d'expériences ayant duré trois semaines. L'extrait d'hypophyse ne semble avoir exercé aucune action sur la croissance sarcomateuse.

Il est bon de rappeler ici les expériences antérieurement

signalées, montrant que les tumeurs greffées se développent normalement après hypophysectomie. Il est vrai que BALL, SAMUELS et SIMPSON, étudiant aussi l'effet de l'hypophysectomie, selon la méthode de P.-E. SMITH, sur l'évolution du carcinome mammaire N° 256, greffé au Rat, signalent que l'intervention provoquerait une action empêchante. Mais le nombre des expériences fut trop faible pour permettre une conclusion définitive.

Il est d'ailleurs de toute nécessité d'observer la plus grande prudence dans ces recherches, surtout lorsque les résultats conduisent à un ralentissement du développement du cancer.

Il est tout d'abord indispensable de s'entourer de toutes les précautions nécessaires concernant la virulence de la souche tumorale et l'homogénéité des animaux employés. Nous avons assez insisté sur ces conditions.

Mais, il faut encore se demander si l'action empêchante est bien spécifique, on sait en effet que toute cause qui atteint l'état général des animaux, peut retentir sur le développement du néoplasme; une intervention chirurgicale sévère, ou l'injection prolongée d'extraits plus ou moins toxiques, peuvent parfois amener des résultats, qui seraient importants s'ils étaient spécifiques.

Nous avons eu l'occasion d'injecter à des Rats sarcomateux des doses énormes d'une spécialité médicamenteuse à base de sels de plomb, qui devait, paraît-il, faire merveille, d'après les résultats obtenus sur les cancers humains. Nous n'avons pas enregistré la moindre exacerbation, ni le moindre ralentissement de l'évolution si régulière de notre souche tumorale. Ceci démontre, en l'occurrence, que les sels de plomb ne devaient pas être particulièrement toxiques.

CHAPITRE II

RECHERCHES SUR L'HEREDITE CANCEREUSE

La notion de la contagion du cancer (cancer à deux, maisons et cages à cancer, épidémies de cancers) n'a guère résisté à l'observation méthodique. Il s'agit, dit BASHFORD, d'un mythe ne reposant que sur des coïncidences et des statistiques mal établies.

Comme la contagion, l'hérédité cancéreuse ne paraît pas manifeste, quoique, sur la foi d'observations cliniques, le public et les médecins aient accepté cette notion d'hérédité comme un véritable dogme.

Cependant des travaux de laboratoire fort importants furent consacrés à cette question. Maud SLYE a poursuivi à la « Mouse House » de Chicago, des recherches sur la Souris, qui furent retentissantes. Miss STARCK étudia dans le même but une curieuse tumeur des Mouches.

Pour ces deux auteurs, l'hérédité cancéreuse obéirait aux lois de MENDEL. Il est certain que les études de M. SLYE représentent la contribution expérimentale la plus importante que l'on ait publiée sur ce sujet; elles sont basées sur l'observation de 50.000 Souris durant une quinzaine d'années. L'hérédité du cancer spontané paraîtrait indiscutable, sa transmission obéirait aux lois découvertes par G. MENDEL chez les Végétaux et retrouvées par CUÉNOT chez les Animaux. L'analyse génétique aurait démontré que le caractère « résistance au cancer » serait dominant, et que le caractère « tendance au cancer » serait récessif.

Ces conclusions ne furent pas confirmées par A. de COULON et L. BOEZ étudiant la descendance de Souris issues de mères cancéreuses spontanément et de pères sains. Les petits furent allaités par des mères normales pour éviter toute contagion éventuelle.

Les auteurs n'ont pas retrouvé dans les lignées de diagrammes semblables à ceux de M. SLYE, et superposables à ceux de la transmission des caractères héréditaires selon MENDEL. Les générations successives obtenues par un tel croisement n'ont pas présenté un pourcentage de tumeurs spontanées obéissant aux lois classiques de l'hérédité.

Maud SLYE poursuit encore ses études à l'heure actuelle et, analysant récemment la descendance d'une lignée de Souris issue d'une femelle cancéreuse et d'un père normal, elle apportait de nouvelles preuves en faveur de ses premières conclusions.

Mais, d'après Roussy, il faut distinguer une hérédité directe, c'est-à-dire la transmission directe des parents aux enfants de la cause de la maladie, et une hérédité de terrain, transmission d'un état particulier permettant au cancer de se développer dans un organisme sous l'influence d'une cause encore inconnue. Il est bien difficile, en effet, d'admettre que le cancer se transmet comme un véritable caractère héréditaire, analogue à la couleur du pelage par exemple; on doit néanmoins reconnaître qu'aucun auteur n'a opéré sur un matériel aussi abondant que M. SLYE (1).

On a fait remarquer aussi que les Souris, porteuses de cancer du goudron, ne donnent pas naissance à des produits atteints de cancer. Il est vrai qu'ici la question se complique du problème de l'hérédité des caractères acquis, théorie qui

(1) MERCIER et GOSSELIN viennent de constater que la prédisposition au lymphosarcome spontané est héréditaire chez les Souris (*Bull. Acad. Méd. Paris*, t. 109, p. 106, 1933).

n'a pas grande vogue à l'heure actuelle dans les milieux biologiques.

En 1910, CONTAMIN étudia la réceptivité à la greffe de jeunes Souriceaux de deux à six semaines, dont les mères réfractaires avaient résorbé de nombreux implants (jusqu'à 6). Les Souriceaux, greffés avec 0 gr. 2 de tumeur de JENSEN, développèrent des cancers analogues à ceux des témoins.

Nous avons réalisé nous-mêmes quelques expériences qui nous permettent d'apporter une petite contribution personnelle à ce problème particulièrement important.

Nous avons mentionné, dans la deuxième partie de ce mémoire, que des tumeurs, transmises par greffes, peuvent se résorber au cours de la gestation, ainsi que l'ont mis en évidence J. CLUNET, CUÉNOT et MERCIER, APOLANT, etc...

Nous avons cité des expériences personnelles à ce sujet; des femelles de Rat, porteuses d'un sarcome de JENSEN en évolution, sont devenues pleines et le cancer s'est résorbé au cours de la grossesse. Après l'accouchement, ces femelles reçurent à nouveau des implants néoplasiques, elles les résorbèrent dans tous les cas, elles avaient donc acquis une immunité au cours de leur gravidité. Or, nous avons remarqué que cette immunité acquise, et qui paraît devoir être persistante, est propre à la mère. Nous avons, en effet, pratiqué des greffes chez des petits dont les mères avaient résorbé leur tumeur, les résultats furent homogènes et convaincants, la totalité de la descendance fit des cancers magnifiques, l'expérience a été faite sur deux nichées de six petits chacune.

Ceci démontre donc que les potentialités d'immunité qui se sont développées durant la gestation chez la mère, et qui se révélèrent ensuite lors des multiples tentatives de greffes, n'ont pas franchi la barrière placentaire, et ne sont pas venues s'adjoindre au patrimoine héréditaire des fœtus.

Il y aurait beaucoup à dire au sujet de la transmission transplacentaire des propriétés d'immunité en général, mais cela sort du cadre que nous nous sommes assigné.

Nous avons aussi étudié l'aptitude à héberger un cancer greffé chez de jeunes Rats, issus de père et de mère spontanément réfractaires.

Au cours de nos greffes, nous avons, ainsi qu'il le fut signalé, découvert dans l'élevage quelques Rats mâles et femelles, doués d'une immunité spontanée à l'égard du sarcome de JENSEN. Nous avons étudié les caractères de la descendance de ces animaux.

Voici quelques protocoles d'expériences :

Mars 1933. — Trois femelles spontanément réfractaires, ayant résorbé un implant cancéreux virulent chez une vingtaine de leurs congénères greffées en même temps, sont mises en cage en compagnie de trois mâles résistants, qui ont déjà reçu trois ou quatre implants sans succès.

4 Mai 1933. — Deux de ces femelles et leurs douze petits reçoivent des implants néoplasiques.

28 Mai 1933. — Les deux mères n'ont pas trace de tumeur, tous les petits sont porteurs d'une tumeur volumineuse, deux d'entre eux en sont déjà morts. On greffe à cette date les sept petits de la troisième femelle, ainsi que cette dernière.

12 Juin 1933. — La mère a résorbé son implant, ses sept enfants ont des cancers magnifiques.

Voici un deuxième exemple :

30 Mars 1933. — On greffe six Rats de père et mère réfractaires. Ces petits, nés le 10 février 1933, sont donc âgés au moment de la greffe, de cinquante jours. On greffe aussi trois petits mâles normaux qui serviront de témoins.

7 Avril 1933. — Leur tumeur semble se bien développer.

15 Avril 1933. — La tumeur est bien développée, elle est aussi grosse que celle des témoins.

3 Mai 1933. — Les six Rats ont une tumeur très volumineuse.

Au total, vingt-cinq Rats sur vingt-cinq, issus de père et mère réfractaires, ne présentent aucun signe d'immunité. Il était intéressant de connaître, le comportement des descendants de la deuxième et de la troisième génération, dont la souche est un couple d'animaux spontanément immuns.

Nous n'avons pas pratiqué des greffes à tous ces descendants, mais tous ceux qui en reçurent furent « positifs », et nous n'avons constaté aucune différence entre ces Rats et des Rats ordinaires.

Nous n'avons, en somme, jamais pu mettre en évidence un seul cas d'immunité congénitale dans nos expériences.

Il importe de signaler ici que LITTLE et TYZZER (voir la référence bibliographique dans le travail de M. SLYE traduit par Cl. REGAUD), travaillant avec des tumeurs greffées, trouvèrent que la tendance à accepter une greffe de cancer et à la supporter est héréditaire.

CONCLUSIONS GENERALES

Nous avons exposé dans la première partie de ce mémoire les résultats de recherches longues et laborieuses, destinées à savoir si les acides aminés, normalement apportés par l'alimentation, et indispensables à un jeune organisme pour effectuer sa croissance, étaient également nécessaires au développement d'un cancer. La lysine est un de ces amino-acides dont l'organisme ne peut faire la synthèse.

Nous avons soumis de jeunes Rats à une carence de lysine, en leur offrant un régime complet par ailleurs, mais dont le constituant protidique était représenté, soit par la gliadine du froment qui renferme très peu de lysine, soit par la zéine du maïs qui n'en contient pas.

La déficience ou l'absence de lysine s'est immédiatement fait sentir. La croissance des sujets mis en expérience fut immédiatement interrompue. Les animaux, étant dans les conditions requises, reçurent alors sous la peau un greffon prélevé sur un sarcome de JENSEN, à virulence parfaitement homogène sur l'élevage des Rats.

Les résultats enregistrés furent les suivants :

En présence de faible quantité de lysine alimentaire, ne permettant pas la croissance, le greffon sarcomateux a cependant proliféré chez des sujets dont le poids était, dans beaucoup de cas, parfaitement stabilisé. Mais cette prolifération fut extrêmement ralentie par rapport à la normale. Il est possible que la lysine introduite ait permis ce léger développement tumoral.

Avec un régime dépourvu de lysine, la tumeur a évolué quand l'animal a maigri. Dans un cas où le poids demeura

invariable, le cancer ne s'accrut pas. Il semblerait donc que le développement de celui-ci s'effectue aux dépens de son hôte, grâce à l'existence d'échanges chimiques.

La lysine est peut-être nécessaire à la prolifération de la cellule sarcomateuse, comme elle l'est à la croissance de l'organisme normal. Seules, les études de bilan apporteront une solution définitive.

La déficience ou l'absence de lysine introduisent une dissociation dans l'évolution du soma et du germen chez les animaux carencés. Ce dernier se développe normalement sur un soma en arrêt.

Au cas où les besoins nutritifs de différents parenchymes seraient les mêmes, il serait important d'étudier le mécanisme de certains transferts de substances s'effectuant entre ces tissus dans un sens donné.

Dans la seconde partie de notre travail, nous envisageons les questions de défense, d'immunité et d'hérédité concernant les processus cancéreux.

Nous plaçons, dans leur cadre, nos observations et nos expériences personnelles. Elles intéressent des phénomènes d'immunité temporaire ou durable, spontanée ou acquise au cours de la gestation.

Nous signalons que l'immunité se développant chez la mère pendant la grossesse et qui subsistera après l'accouchement, ne se transmet pas à ses petits.

Nous démontrons que l'état réfractaire spontané d'un mâle et d'une femelle n'est légué à aucun de leurs descendants de la première génération, ni à tous ceux de la deuxième et de la troisième, sur lesquels la greffe fut faite.

Enfin, nous envisageons l'action éventuelle sur le développement sarcomateux de certaines substances (placenta humain, extrait préhypophysaire, médication aux sels de plomb). Les résultats sont négatifs.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE (1)

ABELOOS (M.). — La régénération et les problèmes de la morphogénèse.

Collection des actualités biologiques. Gauthier-Villars. Paris, 1932.

ARLOING, MOREL, JOSSEMAND et BADINOMD. — Nouvelles recherches sur les propriétés antitumorales d'extraits de surrénales vis-à-vis de l'épithélioma expérimental de la Souris blanche.

C. R. Soc. Biol., t. 112, p. 156, 1933.

BALL, SAMUELS et SIMPSON. — The relation of the hypophysis to the growth of malignant tumors.

Am. J. of Cancer, t. 16, p. 351, mars 1932.

BARONI et COMSIA. — Influence sur l'évolution du sarcome de JENSEN de la transplantation d'organes homologues provenant d'animaux normaux et immunisés.

C. R. Soc. Biol., t. III, p. 1103, 1932.

— Influence des greffes hétérologues d'organes sur l'évolution du sarcome chez les Rats.

C. R. Soc. Biol., t. III, p. 1106, 1932.

— Blocage du système réticulo-endothélial par l'encre de Chine et immunité envers le sarcome de Jensen.

C. R. Soc. Biol., t. 111, p. 1108, 1932.

— Action des masses nécrotiques provenant du sarcome transplanté avec des fragments d'organes, sur l'évolution des tumeurs des Rats.

C. R. Soc. Biol., t. 112, p. 413, 1933.

— Immunité envers le sarcome obtenue par des greffes de tissu embryonnaire et placentaire.

C. R. Soc. Biol., t. 113, p. 1310, 1933.

(1) Les travaux indiqués permettent de faire une bibliographie complète. Consulter en particulier le livre de TERROINE sur le Métabolisme de l'azote; celui de ROUSSY sur le Cancer, et l'Index analyticus cancerologie (Masson, Paris).

- BERTRAND (G.) et THOMAS. — Guide pour les Manipulations de chimie biologique. Dunod et Pinot, Paris, 1919.
- BRADFORD VICKERY (H.) and LEAVENWORTH (Ch. S.). — Modifications of the method for the determination of the basic amino-acids of proteins. The bases of edestin.
J. of biol. Chemist., 1928, vol. 76, p. 707.
- BRAUN et CAHN-BROUNER. — *Centralbl. für Bakter*, t. 86, p. 380, 1921.
- CLUNET (J.). — Recherches expérimentales sur les tumeurs malignes.
Thèse Médecine Paris, 1910.
- CONTAMIN (A.). — Le Cancer expérimental.
Masson, Paris, 1910.
- COULON (A. de) et BOEZ (L.). — L'hérédité cancéreuse chez la Souris.
Bull. Assoc. franc. étude du cancer, p. 511, juin 1924.
- COURRIER (R.) et RAYNAUD (R.). — Modifications génitales chez les animaux à croissance arrêtée par la déficience en lysine.
C. R. Soc. Biol., t. 109, p. 881, 1932.
- COURRIER et COSTE. — Cancer et acides aminés indispensables à la croissance.
C. R. Soc. Biol., t. 115, p. 631, 1934.
- CRACIUM (E.-C.). — Influences métaboliques et hormonales sur le développement des greffes cancéreuses.
C. R. Soc. Biol., t. 111, p. 137, 1932.
- CRAMER (W.). — Tryptophane, thyroïd gland and tumour growth.
The J. of Physiol., v. 57, p. 69, P. 1923.
- EPHRUSSI (B.). — La culture des tissus.
Collection des actualités biologiques. Gauthier-Villars, Paris, 1932.
- EVANS (H. M. L.). — La vitamine lipo-soluble E et la reproduction chez les Mammifères.
Bull. Soc. Scient. Hygiène aliment., v. 16, p. 382, 1928.
- FIGHERA. — Organothérapie des tumeurs malignes.
Klinisch Wochenschrift., p. 1957, déc. 1933.
- FISCHER (A.) et LASER (H.). — La croissance relative des tissus normaux et malins.
C. R. Soc. Biol., t. 97, p. 1377, 1927.
- L'action du sérum sanguin sur la multiplication des cellules carcinomateuses.
C. R. Soc. Biol., t. 97, p. 1379, 1927.

- Nouvelles recherches relatives à la biologie des cellules néoplasiques.
Ann. Anat. path. et Anat. méd. chirurg., 1931, t. 8, p. 665.
- FLAKS (J.). — Thyreoida und Wachstum des Jensenschen-Ratten-sarkoms in seinem Frühstadium.
Zeitsch. für Krebsforsch. Bd., 27, p. 548, 1928.
- FRANKEL et GEREK. — Wachstumstendenz maligner Tumoren und Vitamine.
Zeitschr. für Krebsforsch., t. 38, p. 524, mars 1933.
- GROSS (L.). — Influence de l'hormone du lobe antérieur de l'hypophyse, de l'urine de femme enceinte et des extraits de placenta sur le développement du sarcome transplantable chez la Souris.
Bull. Intern. Acad. polon. sc. et Lett. Cracovie, N° 7-9, pp. 257-275, oct.-déc. 1931.
- GROSS (L.) et WAJDA (S.). — De l'action du placenta sur les sarcomes greffés sur des Souris.
Acad. polon. Sc. et Lett. Sect. Médec., n° 4, avril 1932.
- GRYNFELT (E.). — Quelques données fondamentales de l'histophysiologie des cellules cancéreuses.
Montpellier Médical, 15 avril 1933.
- HART, NELSON et PITZ. — Synthetic capacity of the mammary gland.
I. Can this gland synthesize lysine ?
J. of Biol. Chemist., v. 36, p. 291, 1918.
- HAALAND. — *Berl. klin. Wochenschr.*, p. 713, 1907.
- KARNICKI (W.). — Action des glandes endocrines sur le développement et l'évolution du cancer expérimental.
Zeitsch. für Krebsforsch. Bd. 35, p. 525, 1932.
- KERGUNTUL (R.). — La greffe des tumeurs malignes entre espèces animales distinctes.
Monographie sur les tumeurs. Le François, Paris, 1933.
- KOCHER (A.). — The hexone bases of malignant tumors.
J. of biolog. Chemist., v. 22, p. 295, 1915.
- LACASSAGNE (A.). — Apparition de cancers de la mamelle chez la Souris mâle, soumise à des injections de folliculine.
C. R. Ac. Sc., 10 octobre 1932.
- Métaplasie épidermoïde de la prostate provoquée chez la Souris par des injections répétées de fortes doses de folliculine.
C. R. Soc. Biol., t. 113, p. 590, 1933.

- Influence d'un facteur familial dans la production, par la folliculine, de cancers mammaires chez la Souris mâle.
C. R. Soc. Biol., t. 114, p. 427, 1933.
- LAMBRET (O.) et DRIESSENS (J.). — Régression et disparition du sarcome de Jensen sous l'action de l'insuline injectée après la greffe.
C. R. Soc. Biol., t. 112, p. 1430, 1933.
- LUDWIG (F.). — Über den Einfluss der Ernährung auf das Wachstum des Mäusecarcinoms und Rattensarkoms.
Zeitschr. für Krebsforsch., p. 2, Bd. 23, 1926.
- Mc EUEN. — Effect of hypophysectomy on growth of the Walker-Rat tumor.
Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., v. 30, p. 928, avril 1933.
- MERCIER et GOSSELIN. — Greffe du lymphadénome massif du poumon (lymphosarcome) dans la queue de la Souris. Métastases.
C. R. Soc. Biol., t. 111, p. 921, 1932.
- MITCHELL et HAMILTON. — The biochemistry of the amino-acids.
The Chem. Catalog. Comp. Little and Yves Cie, N. Y., 1929.
- MÖRESCHI. — *Zeitschr. für Immunitätsforsch.*, p. 651, 1909.
- NÈGRE (Ch.). — Quelques recherches sur le cancer spontané et le cancer expérimental des Souris.
Thèse Médecine, Paris 1910.
- OBERLING (Ch.). — La généralisation des cellules cancéreuses dans l'organisme.
Conférence radiodiffusée de l'A.F.A.S., 17 juin 1931, (voir Bulletin de A.F.A.S.)
- ODIETTE (D.). — Etude de la substance élastique dans les Cultures de tissus *in vitro*.
Thèse Médecine, Paris 1933.
- OPPENHEIMER. — Handbuch der Biochimie des Menschen und der Tiere. G. Fischer, Iéna, 1924.
- OSBORNE (T.-B.) et MENDEL (L.-B.). — The role of gliadin in nutrition.
J. of biolog. Chemistry, v. 12, p. 473, 1912.
- Amino-acids in nutrition and growth.
J. of biolog. Chemist., v. 17, p. 325, 1914.
- OSBORNE, VAN SLYKE, LEAVENWORTH et VINOGRAD. — Some products of hydrolysis of gliadin, lactalbumin, etc.
J. of biol. Chemist., v. 22, p. 259, 1915.

- OSBORNE et MENDEL. — Carence de lysine chez les Oiseaux.
J. biolog. Chemist., v. 26, p. 293, 1916.
- OSBORNE et SRAUSS. — Darstellung der Proteine der Pflanzenwelt.
Abderhalden Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden.
Abt. I. Teil 8.
- RANDOIN (L.) et SIMONNET (H.). — Les données et les inconnues du problème alimentaire. I. Le problème de l'alimentation.
Collection des problèmes biologiques. Les Presses universitaires de France, Paris, 1927.
- Les données et les inconnues du problème alimentaire. II. La question des vitamines.
Collection des problèmes biologiques. Les Presses universitaires de France, Paris, 1927.
- RICHEL FILS (Ch.). — Cinq leçons sur les actualités physiologiques.
Baillière et Fils, Paris 1928.
- ROBERTSON et BENNETT. — Cités d'après F. LUDWIG.
- ROCHE (A.). — Inanition protéique, réserves azotées, et constitution des protéines musculaires.
Thèse Médecine, Marseille, 1933.
- ROUS PEYTON. — The influence of dieting upon the course of Cancer.
Johns Hopkins Hosp. Bull., v. 26, p. 146, 1915.
- ROUSSY, LEROUX et WOLF. — Le Cancer.
In Nouveau traité de Médecine, fasc. 5, t. 2, Masson, Paris, 1929.
- SCIENSKI, — Sur l'influence des extraits du lobe antérieur de l'hypophyse et de la thyroïde sur l'apparition et l'évolution des tumeurs du goudron.
Bull. internat. Acad. polon. Sc. et Lett. Cracovie, n° 7-9, p. 225, oct.-déc. 1931.
- SLYE (Maud). — Etudes sur la nature et l'hérédité du Cancer.
Paris Médical, pp. 256-274, 20 mars 1926.
- STENDEL (H.). — Isolierung, Bestimmung und Nachweis von Histidin, Lysin und Arginin.
Abderhalden, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden.
Abt. I Teil 7.
- SWEET, CORSON-WHITE and SAXON. — The relation of diets and of castration to the transmissible tumors of Rats and Mice.
J. of biol. Chemist., v. 15, p. 181, 1913.

- TERROINE (E.-F.). — Le métabolisme de l'azote.
Collection des problèmes biologiques. Les Presses Universitaires de France, Paris, 1933.
- THOMAS. — Le carotène favorise-t-il la formation des cancers expérimentaux.
C. R. Soc. Biologie, p. 883, juillet 1932.
- UNDERHILL (F.-P.). — The Physiology of the amino-acids.
Yale University Presse, New-Haven, 1915.
- VLES (F.) et DE COULON (A.). — Dix ans de recherches relatives à une physico-chimie du cancer, etc.
Archiv. Physique biologique, t. 11, p. 7, 1933.
- VOGT. — Rapport entre le pouvoir de croissance des tumeurs et leur teneur en vitamine A.
Médec. Klin., 2 sept. 1932.
- WALKER et NELSON. — Fresh and dried yeast as sources of vitamin B.
The am. J. of Physiol., v. 102, p. 25, 1933.
- WARBURG (O.). — Métabolisme cellulaire et métabolisme des tumeurs
F. Alcan, Paris, 1928.
- ZONDEK (H.), ZONDEK (B.) et W. HARTOCH. — Prolan et croissance des tumeurs.
Klin. Wochenschr., t. 11, 22 octobre 1932.

VU :

Le Président de Thèse :

R. COURRIER.

VU :

Pour le Doyen, l'Assesseur :

D' V. GILLOT.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Alger, le 21 Mars 1934.

Pour le Recteur,

le Vice-Président du Conseil de l'Université :

Louis GERNET.

